

そ菜の養液栽培におけるピシウム
立枯病の発生防止に関する研究

1980

草刈真一

新 制
農
302 函

そ菜の養液栽培におけるピシウム
立枯病の発生防止に関する研究

1980

草刈真一

目次

	頁
I. 緒言	1
II. 大阪府下の養液栽培施設における病害発生状況	5
II-1. はじめに	5
II-2. 大阪府下における養液栽培の普及とその栽培作物	7
II-3. 養液栽培において発生する病害	10
II-4. 養液栽培において実施されている病害防除対策	15
II-5. まとめ	18
III. 養液栽培と土壌栽培における <u>Pythium</u> 属菌による病害	20
III-1. <u>Pythium</u> 属菌によるミツバ立枯病	
III-1-1. ミツバ立枯病罹病植物から分離される病原菌	21

- Ⅲ-1-2. 養液栽培において発生する2種類のミツバ立枯病の発生とその病徴の比較 31
- (1) Rhizoctonia solani による立枯病の発生生態と病徴 31
- (2) Pythium 属菌によるミツバ立枯病の発生生態と病徴 34
- Ⅲ-1-3. ミツバ立枯病菌の同定と菌学的性質 36
- (1) 分離菌株の形態 36
- (2) 温度, pHを異にする条件下におけるミツバ立枯病菌の生育 37
- (3) 同定 39
- Ⅲ-2. 高温環境下において発生するホウレンソウ立枯病とその病原菌 41
- Ⅲ-2-1. ホウレンソウ立枯病から分離される病原菌 42
- Ⅲ-2-2. Pythium butleri によるホウレンソウ立枯病 48

(1)	病害発生と気温	48
(2)	ホウレンソウ品種と立枯病発生	53
(3)	各温度条件下におけるホウレンソウ立枯病菌の生育	56
III-2-3.	ホウレンソウ立枯病菌の同定	59
(1)	ホウレンソウ立枯病菌の培地 上における形態	60
(2)	ホウレンソウ立枯病菌の造卵 器の大きさ	61
(3)	同定	64
III-3.	考 察	67
IV.	<u>Pythium</u> 属菌の生活環と栽培環境	71
IV-1.	養液栽培における <u>Pythium</u> 属菌 の病害と遊走子	71
IV-1-1.	<u>Pythium imperfectum</u> の遊走子形成 と温度, pH の関係	72
IV-1-2.	培養液濃度と発病	76
IV-1-3.	培養液中における <u>Pythium butleri</u> と <u>Pythium imperfectum</u> の遊走子形成	86

- IV-1-4. 培養液構成塩類の遊走子形成
に及ぼす影響 93
- IV-1-5. 培養液中における遊走子濃度
と立枯病の発生 99
- IV-1-6. 薬剤による Pythium 属菌の防除
とくに Ridomil の効果 108
- IV-1-7. 考 察 121
- IV-2. Pythium 属菌卵胞子の発芽と土
壤中における生存. 125
- IV-2-1. ホウレンソウ組織中と培地上
における Pythium butleri の卵胞
子形成 125
- IV-2-2. Pythium butleri の卵胞子の発芽
と発芽条件 135
- IV-2-3. Pythium butleri の卵胞子の発芽
形態. 149
- IV-2-4. 土壌中への Pythium butleri 卵胞
子接種とホウレンソウ立枯病
の発生 162

IV-2-5.	土壤中におけるホウレンソウ 立枯病の菌糸, 遊走子のうく 膨状体) および卵胞子の消長	173
IV-2-6.	ホウレンソウ立枯病菌卵胞子 に対する各薬剤の発芽抑制効 果	179
IV-2-7.	考 察	186
V.	自然土壤中における放線菌による <u>Pythium</u> 属菌の落菌と立枯病の減 少	193
VI.	養液栽培における <u>Pythium</u> 立枯病発 生防止に関する総合考察 とくに土壤栽培との比較	209
VI-1.	べん毛菌類による病害の特殊 性	209
VI-2.	<u>Pythium</u> 属菌の生態と病害防除 法	217
	摘 要	225
	謝 辞	233
	引 用 文 献	234

四 版

I. 緒 言

植物の伝染病は、植物と病原菌の相互関係により起こる。その発現には、植物・病原菌間の関係が重視されるが、両者の周辺をとりまいていゝ環境要因も重要である。例えば、¹⁶⁾Plasmodiophora brassicae による十字科植物の根こぶ病は、酸性土壌で土壌湿度が最大要水量の70-80%、温度が18-25℃のとき多発するといわれ、温度、湿度、pHといった環境要素が大きな要因となっている。

こうした病害の発生と環境要因の関係は、古く Jones⁵¹⁾ によつて述べられ、その後多くの報告が認められる。¹⁷⁾ しかし、農業技術の発達は、次々に新しい栽培形態を作り出してあり、それに伴つて今までとは異なる環境が、作物の栽培される現場に出現している。とくに、最近の施設園芸の発達はめざましく、ハウスの大型化、新しい被覆資材の開発、人工照明、加温装置、養液栽培を開発してきた。

最近、このような制御環境下の施設園芸において、今まで認められなかった病害や、それほど重要ではなかった病害が各地で大発生している。^(5, 19, 49) とくに最近都市農業に養液栽培が普及してきたが、この養液栽培において発生する病害が大きな問題になっている。^(52, 94)

養液栽培は、通常行われている土壌栽培とは異なり、地下部は“水”に置き換えられており、地上・地下部とも人工制御環境下にある。この養液栽培において、いわゆる“藻菌類”による病害が多発し、防除において困難を極めている。⁽⁵²⁾

養液栽培は、土を離れた栽培形態である。そこに“土壌伝染性”のいわゆる“藻菌類”による病害が多発することは、土壌中でこれらの病原菌が絶えず土壌微生物との競争状態にありながら病害を発生させていることと比較すると、病害発生上興味を持たれる。とくに、Pythium, Phytophthora 属菌といった卵菌目に属する糸状菌は、系統発生上 下等な菌類として位置付

けられている。¹³⁶⁾ その生活環は“水”という環境に依存しており、養液栽培における病害多発性と重要な関係がある。

植物の病害に対して、ヒトは、18世紀中頃より化学的な防除方法を用いてきた。しかし、1962年¹⁴⁾ Carson⁴⁾ が環境汚染と食物連鎖による有毒化学物質の蓄積を警告して以来、環境保護的立場から化学的でない方法により、病害を防除しようとする傾向にある。特に、土壌伝染性病害の防除においては、土壌生態系の有機的な結合を解明し、これにより病害発生を最少にとどめようとする努力がなされて^{7, 55, 57, 58, 106)} いる。しかし、こうした生態的な手段による植物病害の防除は、病原菌の生理的、生態的な諸性質を把握してこそ可能となる。

筆者は、養液栽培における Pythium 属菌による病害とその伝染形態について調査を行い、その防除が、環境制御により可能であることを示して^{65, 66, 67, 68, 69)} きた。また、土壌中における Pythium 属菌の生存形態と病害発生との関係について調

査し、土壌中^{61, 74, 75)}における耐久器官の役割について論じてきた。

本論文では、養液栽培、ハウス土壌栽培（高温環境下）など、従来の露地栽培とは異なる環境下に発生する Pythium 属菌の立枯病を記載すると共に、病原菌の同定、生理的特性の確認、および防除方法の検討の結果をとりまとめた。なお、養液栽培における Pythium 属菌による立枯病発生防止について、いわゆる“藻菌類”による病害の特殊性を加味し、Pythium 属菌の生態と防除法に焦点をいぼり、従来の土壌栽培と比較することにより、菌類の進化過程と農耕における栽培形態の変化に関する総合考察を行った。

II. 大阪府下の養液栽培施設における病害発生状況

II-1. はじめに

都市近郊農業において、近年農業の近代化を目指し、農業がシステム化されつつある。この代表的なものが、養液栽培であって、文字通り“水”を培地として作物を栽培するものである。これは、暖房用ボイラー、自動換気扇、ハウス自動開閉装置等の環境制御装置を備えたガラスハウスまたはビニルハウス内で行われている。作物の栽培は、植物の養分吸収に合わせて考えられた均衡培養液を用いて行われており、養液濃度、pHを調節して、植物の生育を制御し、可能なかぎりの収量をあげている。実際、従来行われている土壌栽培に比較し、生育は一段と早く、その収量は数倍に達する。

このような、いわゆる養液栽培は、新しい

技術ではなく、古くより砂耕法として存在し、一時盛んであったれき耕を経て現在の水耕栽培に至ったものである。養液栽培は、植物にとって理想的な環境を地下部においても作り出すことができ、収量、品質向上といった点において土耕よりも有利である。このような、人工的な制御環境下の養液栽培における野菜栽培面積が増加する現象は、ある意味において、農業生産の場が、土壌という自然を離れて、人工環境下の水溶液中へと移りつつあることを示している。この養液栽培は、病害の回避という点においても有利とされ、今後の大都市近郊の農業の姿であるという考えもある。⁽¹³⁷⁾

しかし、最近、養液栽培（とくに水耕）において、栽培上大きな障害が発生した問題となっている。それは、養液栽培では解決されると思われていた「土壌伝染性病害」である。特に水媒伝染性の病害発生が著しく、 $1,500\text{m}^2$ に栽培されていた一万本近いトマトが、一週

間で全滅する」という被害実例もある。養液栽培は、土壌栽培に比べて肥培管理が行いやすく、作物の生育・草勢も土壌栽培に比較して良好である。その反面、病害発生においては、土壌栽培における発生状況と異なり、今まで重要とは思われなかった病原菌による病害が多発したり、急激な発生を認めることがある。

本項においては、大阪府下における養液栽培の普及とそれに伴う病害発生の特徴、問題となっている病原菌、およびそれらに対処してとらわれている対策について示した。

II-2. 大阪府下における養液栽培の普及とその栽培作物.

大阪府下における養液栽培（砂耕、れき耕、水耕を含む）は、昭和39年に5000 m^2 程度であったが、昭和53年にはれき耕のみで31,762 m^2 と増加し、水耕栽培を加えた総面積は、98,059 m^2 と著しく増加している。

表-1 に現在稼働している大阪府下の養液栽培面積を示した。

表-1 大阪府下における養液栽培施設の面積

養液栽培の類別	施設の面積 (m ²)		
	ビニルハウス	ガラスハウス	施設合計
砂 耕	800	5,913	6,713
れき 耕	6,174	25,588	31,762
水 耕	23,715	35,869	59,584
合 計	30,689	67,370	98,059

養液栽培において作付けされている作物の種類は、実験的には多種類にわたるが、実際経営上栽培されているものは限定されている。また、砂耕、れき耕、水耕といった養液栽培の種類によって栽培作物に特徴が認められる。砂耕では、ほとんどが葉菜類で、ミツバ、シ

エンギク、カイワレダイコンといった軟弱野菜類が、れき耕では、トマト、キュウリといった果菜類が栽培されている。一方水耕栽培では、果菜類、葉菜類がほぼ同程度栽培され、葉菜ではミツバ、果菜ではキュウリ、トマトがその主要栽培作物となっている。表-2に大阪府下の養液栽培の種類と果菜、葉菜類の作付け面積を示した。

表-2 大阪府下における養液栽培の類別と果菜類、葉菜類の栽培状況

養液栽培の類別	栽培面積 (m ²)		
	果菜類	葉菜類	混合
砂 耕	165	4,205	1,800
れき 耕	25,854	5,578	330
水 耕	28,130	37,673	0

II-3. 養液栽培において発生する病害

養液栽培施設における、発生病害の種類と発生面積の詳細は、個々の施設で栽培期間が一定しておらず、連輪作が行われていたため調査が困難である。しかし、一部の農家からの圃取り調査により病害発生状況を調べると表-3, 4のような結果を得た。大阪府下で

表-3 大阪府下における養液栽培での地下部
病害発生報告件数 (1978年~1979年調査)

病 名	報告件数 [*]
キュウリ 疫病	3
トマト 青枯病	0
トマト 灰色疫病 ^{**}	7
トマト子苗根ぐされ病 ^{***}	2
トマト かいよう病	0
ミツバ子苗立枯病	3

* 府下全域の調査ではない。
農林技術センター、普及所(泉北, 泉南)において記録された報告数。

** Phytophthora spp. を分離。

*** Pythium aphanidermatum を分離。

表-4 養液栽培で発生する地下部病害の発生状況と病原菌

病名	病原菌	発生状況
キュウリ疫病 (キュウリ灰色疫病を併)	<u>Phytophthora parasitica</u> <u>Phytophthora capsici</u>	発病を認めると3~4日でバット内の植物が全滅する。
キュウリつぼ割病	<u>Fusarium oxysporum</u>	バット内の一部、所々に発生するが、全滅することは少ない。
トマト青枯病	<u>Pseudomonas syringae</u>	全バットに急速に伝染する。
トマト灰色疫病	<u>Phytophthora capsici</u>	発生初期は根が褐変するが、やがて黒変し、数日で全滅する。
トマト萎凋病	<u>Fusarium oxysporum</u>	局所的に発生する。
メロンつぼ割病	<u>Fusarium oxysporum</u>	局所的に発生する。
ミツバ立枯病	<u>Pythium imperfectum</u>	急速に伝染する。発生は高温期にみられる。全滅することがしばしばある。

多発する土壌伝染性の病害を表一々に示したが、土耕での栽培体系では、Fusarium 属菌、Verticillium 属菌による病害が多発しているのに比較し、養液栽培では、このような病原菌による病気はほとんど問題とならない。例えば、Fusarium 属菌による病害（トマト萎凋病またはキュウリのつる割病）が発生した場合でも、栽培槽全体に広がる被害は与えず、局部的な被害に止る。これに比較して、青枯病、Pythium 属菌による苗立枯病などは、発生すると養液槽全体に拡散し大きな被害を与えている。また、最近、養液栽培で収穫期近いトマトに急性な萎凋症が発生し、被害植物から Phytophthora 属菌が分離された。このように、トマトの養液栽培では、Pythium 属菌、Phytophthora 属菌といった叩菌目や、Pseudomonas 属のような細菌による病害の発生が多く、しかもその被害が潰滅的である。

キュウリについては、土壌栽培ではつる割病、立枯性疫病の被害が多いが、養液栽培で

表-5 養液栽培および土壌栽培において発生
する病害の比較

野菜の種類	発 生 病 害 ^{a)}	
	養液栽培	土壌栽培
ト マ ト	1. 灰色疫病 2. 青枯病 3. 子苗立枯病 ^{b)}	1. 青枯病 2. 半身萎凋病 3. 萎凋病
キ ャ ウ リ	1. 疫病 2. 子苗立枯病 ^{c)}	1. 立枯性疫病 2. つる割病 3. 立枯病 ^{d)}
ミ ツ バ	1. 立枯病 ^{e)}	1. 立枯病 ^{f)} 2. 株枯病

a) 主に地下部に発生する病害についてまとめた。
数字は、多発の順位を示す。

b) Pythium aphanidermatum による病害。

c) Pythium debaryanum による病害

d) Rhizoctonia solani による病害

e) Pythium imperfectum による病害

f) Rhizoctonia solani による病害。

は、Phytophthora 属菌による疫病の被害が最も大きい。

養液栽培における細菌目、細菌類による病害多発の傾向は、大阪府下の施設のみならず、全国的な傾向にある。^{149, 94, 99, 130)}表-6に、過去10年間、我が国において報告された養液栽培での病害発生報告を病名ごとに集計したものを示した。これによくと、養液栽培では、キュウ

表-6 過去10年間に水耕と水耕栽培において発生した病害とその報告数(主に地下部病害について)

病名	文献数 ^{a)}
キュウリ疫病	16
トマト青枯病	7
トマト灰色疫病	3
トマト子苗の根これ	1
トマトのかいよう病	1
ミツバ子苗立枯病	2

a) 各試験場報告, 病害虫発生予察年報, 農等および園芸誌より集計した。

りの疫病, トマトの青枯病, トマトの灰色疫病が多発していることがわかり, 養液栽培上にも重視⁹⁴⁾されている。しかし, 大阪府下の養液栽培施設においては, 育苗時期のトマト, キュウリに Pythium aphanidermatum, Pythium debaryanum による立枯病, ミワバ栽培における Pythium 属菌の立枯病が多発の問題となっている。

II-4. 養液栽培において実施されている病害防除対策

養液栽培では, 病原菌を培養液中に持ち込まないかぎり, 土壌伝染性病害を回避することができるといわれるが, 実際上病原菌を持ち込まないことは, 不可能に近い。特に, 種子伝染, 育苗床(砂・バーミキュライトに播種する)からの持ち込み, ハウスの雨もりからの菌の侵入等, いろいろな侵入経路が考えられる。従って, 養液栽培においては, 病害防除対策が不可欠なものとなる。

養液栽培で指導されている防除方法は、作付け前の水ま・栽培槽の消毒（ケミフロンG 1,000倍～5,000倍）であり、病原菌が栽培槽、養液タンクへ入るのを防ぐことを目的としている。しかし、作物の栽培期間中に病害が発生した場合には、有効な防除方法はない。ただ、Pythium、Phytophthora 属菌の病害に対しては、パンソイル・タチガレンなどの薬剤の養液混入が行われているが、農薬使用上登録された方法ではない。表-7に、養液栽培で病害防除に有効とされている方法をまとめた。

キヌウリの疫病、ミツバ立枯病に対して、ディクソン、パンソイルの添加が行われてきたが、これらの薬剤は、殺菌効果はほとんどなく（使用濃度において）、静菌的であり、薬剤成分が分解されたり、流れると、再び発病が激しくなる。また、薬剤の添加により植物の生育が悪くなり、栽培上好ましい方法とはいえない。

表-7 養液栽培で発生した病害についてとられている
対策のうち有効とされる処理法

対象病害	作付前の消毒方法 ^{a)}	栽培期間中の方法 ^{b)}
キュウリ 疫 病	1. ホルマリン100倍液に24時間浸漬。 2. ケミクロン5000倍液(塩素濃度140ppm)に24時間浸漬 3. ダイセンステルス(マンガン塩10%添加)5000倍液に浸漬	1. テイクソン70%水剤を40ppmとなるように添加する。 ⁽⁴⁷⁾ 2. テイクソン10-15ppmとなるように添加する。 3. 有機銅剤250ppm添加
トマト青枯病	1. ホルマリン100倍液に24時間浸漬(病根は72時間浸漬する)	1. セロサイジン, シラハゲンが効果的。 2. ストラプトマイシン(20%)を1万~2万倍になるように添加する。
ミツバ立枯病	ケミクロン5000倍液に24時間浸漬する。	パンソイル15ppm添加により発病が抑制された。

a) 水耕栽培装置の消毒方法として行われているもの

b) 培養液中への薬剤の添加による防除方法。

II-5. ま と め

大阪府下において、果菜、特にナス、トマト、キュウリ、イチゴといった果菜類の施設栽培面積は、年々減少傾向にある(表-8,9)。しかし、逆に養液栽培の面積は、年々増加し、園芸団地等の建設では、まづ養液栽培の導入

表-8 大阪府下における主要果菜類の栽培面積*

調査年度	果菜類の栽培面積(1000 m ²)		
	ナス	トマト	キュウリ
昭和 45	1640	192	526
47	1470	126	300
49	1372	153	286
53	1096	235	185
54	1043	228	203

*: 大阪府農林部経営指導課調査。

表-9 大阪府下におけるミツバ・シュンギクの栽培面積*

調査年度	ミツバの栽培面積(m ²)		シュンギクの栽培面積(m ²)	
	実面積	延面積	実面積	延面積
昭和 52	3240	21900	7405	37706
53	65550	360245	135809	462061
54	79360	394495	147809	467175

*: 大阪府農林部経営指導課調査。

が行われる。この栽培施設の増加に伴い、養液栽培で発生する障害も増加している。これには、栄養障害、用水の pH 等の問題もあるが、病害発生によるものが最も大きい。養液栽培において発生する病害は、土耕に比較し伝染が急激で、ハウス全体が全滅し収穫が皆無となる例が多い。

水耕栽培を含めて養液栽培で多発する病害は、遊走子を形成し伝染する水生菌によるものが多い。これは、土壌栽培では、Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani といった分生胞子、担胞子により伝染する病原菌による病害が多発するのと比較すると興味深い。病気の発生している環境と、病原菌の生活環、繁殖形態に重要な関係があるものと思われる。

Ⅲ. 養液栽培と土壌栽培における Pythium 属菌による病害

Ⅲ-1. Pythium 属菌によるミツバの立枯病^{64,65,70)}

大阪府下の養液栽培では、収益性から軟弱そ菜、特にミツバの周年栽培を行っているところが多い。このミツバの養液栽培において、6月～9月に立枯病が激発し、この間ミツバの栽培が困難となっておりその対策が望まれている。

ミツバの立枯性の病害としては、今までに Fusarium oxysporum f.sp.⁹⁵⁾ apii による株枯病が知られているが、子苗期の立枯病の発生は、通常の露地栽培において問題になることが少く、その病原菌についても詳細には検討されていない。

そこで、夏季土耕ミツバ子苗立枯病の原因となる病原菌、およびその発生生態について調査し、防除対策についていくつかの試みを行った。

III-1-1. ミツバ立枯病罹病植物から分離される病原菌.

大阪府下の養液栽培で発生するミツバ立枯病は、主に双葉の展開した子苗から、本葉の葉期までの期間に多発している。既往の報告⁹⁵⁾にあつた Fusarium oxysporum f.sp.apii による株枯病とは、その病徴、および発生生態にいくつかの異なつた点が認められ、複数の病原菌によるものではないかと思われた。そこで、数か所の養液栽培施設および露地のミツバ栽培圃場より、罹病植物を採集し、ミツバ立枯病に関与している病原菌の分離を行った。

材料と方法.

露地栽培や養液栽培におけるミツバ立枯病の調査は、昭和49年6月より昭和53年9月(特に毎年5月~10月)まで行った。病原菌は、病害の発生した施設の罹病植物、水き・

培養液より採取・分離を行った。罹病植物は、その表面を水道水により洗浄後、0.5% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液により表面殺菌（5分間浸漬後、殺菌水により洗浄）したのち、分離用寒天培地に置床し、培地上に生育した菌を分離した。

分離用寒天培地として、100 ppm ストレプトマイシン硫酸塩添加ジャガイモ煎汁寒天培地（300g ジャガイモ煎汁、ブドウ糖 30g、寒天 20g、水道水 1000 ml、pH 5.8、以後 ST-PDA と記す）および、100 ppm ストレプトマイシン添加トウモロコシ煎汁寒天培地（50g トウモロコシ煎汁、寒天 20g、水道水 1000 ml、pH 5.8、以後 ST-CMA と記す）を用いた。また、分離菌の有性器官形成培地として Schmitthenner 合成寒天培地（表-10 以下 SCH 培地と記す）、V-8 シューズ寒天培地、および素寒天培地を用いた。なお、罹病植物は、発病初期のものを扱い、末期の腐敗したものは用いなかった。

培養液からの病原菌の分離は、採取した培養液を殺菌水で10倍に希釈し（殺菌水は、蒸留水を用いる水道水を高圧殺菌して得た）、その1 ml を ST - CMA 培地 9 ml に懸濁し、ペトリ皿に分注した。微生物による汚染の著しい場合は、1/4希釈の ST - CMA 培地または、素寒天培地を用いた。

分離菌株のミツバに対する病原性の確認は、予め殺菌したバーミキュライト上にミツバ種子を播種、23 °C で2週間栽培し、双葉の展

表-10 Schmitthenner 培地の組成

組 成	濃 度 (g/l)
シ ョ 糖	2.50
アスパラギン	0.27
リン酸 1カリウム	0.15
リン酸 2カリウム	0.15
硫酸 マグネシウム	0.10
コレステロール	0.01
寒 天	20.00

用いた子苗の株元へ CMA 平板培地で培養した分離菌株の菌そうを 1 cm^2 切り取り接種した。発病は、 30°C の湿室で 5 日間栽培したのち調査した。

実 験 結 果

水耕栽培のミツバ立枯病から分離される病原菌；大阪府下の立枯病発生養液栽培施設数カ所を選定し、病原菌の調査を行った。調査を行った養液施設は、岸和田市神祇、貝塚市、堺市、能勢町、および大阪市東淀川区の5カ所である。病原菌を分離した結果を表一ノに示した。

岸和田市の栽培施設より、れき、罹病植物を採集し、分離されてくる糸状菌を調べたところ表一ノの結果を得た。れきからは、Pythium 属菌以外、Fusarium 属、Rhizopus 属、および Aspergillus 属菌が多数分離されたが、Pythium 属菌以外の菌では病原性を認めなかった。一方、

表-11 ミツバ立枯病罹病植物から分離された病原菌

採集時期	採集場所	分離された病原菌
5月中旬	能勢町	<u>Rhizoctonia solani</u>
6月下旬	岸和田市	<u>Pythium</u> sp.
		<u>Rhizoctonia solani</u>
7月中旬	岸和田市	<u>Pythium</u> sp.
	岸和田市	<u>Pythium</u> sp.
	貝塚市	<u>Pythium</u> sp.
		<u>Rhizoctonia solani</u>
8月初旬	大阪市	<u>Pythium</u> sp.
		<u>Rhizoctonia solani</u>
		<u>Rhizoctonia solani</u>
9月中旬	岸和田市	<u>Rhizoctonia solani</u>

表-12 立枯病発生した施設(岸和田市)のれき、罹病植物体から分離された糸状菌とその頻度

分離された糸状菌	れきから分離された菌数		植物体から分離された菌数	
	菌株数	頻度(%)	無殺菌	表面殺菌
<u>Rhizopus</u> spp.	17	19.8	3	0
<u>Fusarium</u> spp.	15	17.4	7	2
<u>Aspergillus</u> spp.	10	11.6	0	0
<u>Pythium</u> spp.	19	22.1	12	15
<u>Rhizoctonia solani</u>	0	0.0	0	0
<u>Penicillium</u> spp.	5	5.8	0	0
その他	20	23.3	4	0

罹病植物からは、Pythium 属菌のみが高頻度で分離された。

分離された糸状菌のミツバ 対する病原性を調べた結果を、表-13 に示した。病原性の認められた種は、Pythium 属菌以外、Rhizoctonia solani のみであった。

表-13 養液栽培のミツバの立枯病罹病植物から分離された糸状菌の病原性

分離された糸状菌	病原性の有無 [*]
<u>Pythium</u> sp. (No. 1)	+
<u>Pythium</u> sp. (No. 2)	+
<u>Pythium</u> sp. (No. 3)	-
<u>Pythium</u> sp. (No. 4)	+
<u>Rhizoctonia solani</u>	+
<u>Aspergillus</u> sp.	-
<u>Fusarium</u> sp. (No. 1)	-
<u>Fusarium</u> sp. (No. 2)	-

* バーミキコライト上の植物体への無傷接種法による。

分離されてくる病原菌には、時期的に多少変動が認められた。すなわち、5月～7月中旬にかけては、Rhizoctonia solani の分離頻度が高く、7月下旬～9月には、R. solani, Pythium 属菌ともほぼ同程度分離された。

立枯病罹植物より分離された Pythium 属菌は延47菌株で、そのうち23菌株は同一形態で、すべての水耕施設より分離された。

ミツバに対して病原性を有する Pythium 属菌は、SCH 培地、V-8 シュース寒天培地、素寒天培地いづれにおいても有性器官を形成しなかった。しかし、SCH 培地において培養した菌そうからは、多数の遊走子が形成された。

露地栽培のミツバ立枯病から分離される病原菌；露地栽培のミツバに発生する立枯病（図版6-2）を調べたところ、6月-9月に R. solani が検出された。一部の圃場では、Fusarium oxysporum を分離したが、病原性は認められなかった。Pythium 属菌も分離されたが、病原性は認められなかった。

養液栽培施設における病原性 Pythium 属菌の分布；養液栽培施設における立枯病菌の分布を調べ

そのため、岸和田市の園芸団地において培養液、れき、および罹病植物より病原菌を分離したところ、表-14の結果を得た。病原菌

表-14 ミツバ立枯病発生水耕施設のれき、水耕養液ならびに植物からの病原菌の検出。

分離場所	試料数 (No.)	分離培地	
		PDA	CMA
培養液	1	+ ^{a)}	+
	2	-	+
	3	-	+
れき	1	+	+
	2	+	+
	3	+	+
罹病植物	1	+	+
	2	+	
	3	+	+
	4	+	+
	5	+	+ ^{b)}

a) 培地上にありし Pythium sp. の検出を調査した。+は検出されたことを示し、-は検出されなかったことを示す。

b) Rhizoctonia solani が検出された。

は、罹病植物以外に、培養液、れきにも分布していた。とくに立枯病により枯死したと思われる植物遺体からは、本菌が高頻度に分離された。これら遺体は、栽培施設内の通路、水耕槽、およびれきなどに混入して存在していた。

ま と め

大阪府下における、養液栽培で発生するミツバ立枯病に関して、その発生と病原菌について調査したところ、夏季高温期に発生する立枯病の病原として、³⁵⁾ Rhizoctonia solani と Pythium 属菌の2種が検出された。5月上旬から10月下旬までの発生調査では、5月-7月に Rhizoctonia solani の分離頻度が比較的高い。しかし、その他の時期には、両菌がほぼ同じ程度分離された。

養液栽培におけるミツバ立枯病の発生は、養液栽培装置の形式によっても多少異なっ

いす。栽培槽にれきを使用するフボタ式、協和式では立枯病の発生が多く、とくに Pythium 属菌による立枯病が発生した場合、栽培槽内に広く伝染し被害が大きくなる。また、れきを使用しない形式（M式）では、育苗期に R. solani による立枯病が多発し、Pythium 属菌による立枯病の発生は、少なかった。

これら栽培施設の形状の違いによる発病の差は、溶液温度、れき表面の湿湿度など微気象的な要素が関与していると思われ、今後検討を要する。

れきを使用する形式の養液栽培施設で、水耕施設内の Pythium 属菌の分布を調査したところ、病原菌は、施設内のれき、栽培槽の養液中に広く分布していた。とくに、罹病植物遺体が放置されている場合、病原菌はこれを通じて次々と新しい栽培槽へと伝染していくものと考えられる。

養液栽培と異なり、露地栽培において発生する立枯病からは、Pythium 属菌は検出されず、

R. solani のみであり、栽培形態のちがいに
より発生菌に違いが認められた。Pythium 属菌
によるミツバ子苗立枯病は、養液栽培に特異
的なものといえる。

III-1-2. 養液栽培において発生する2種類のミツバ 立枯病の発生生態と病徴の比較

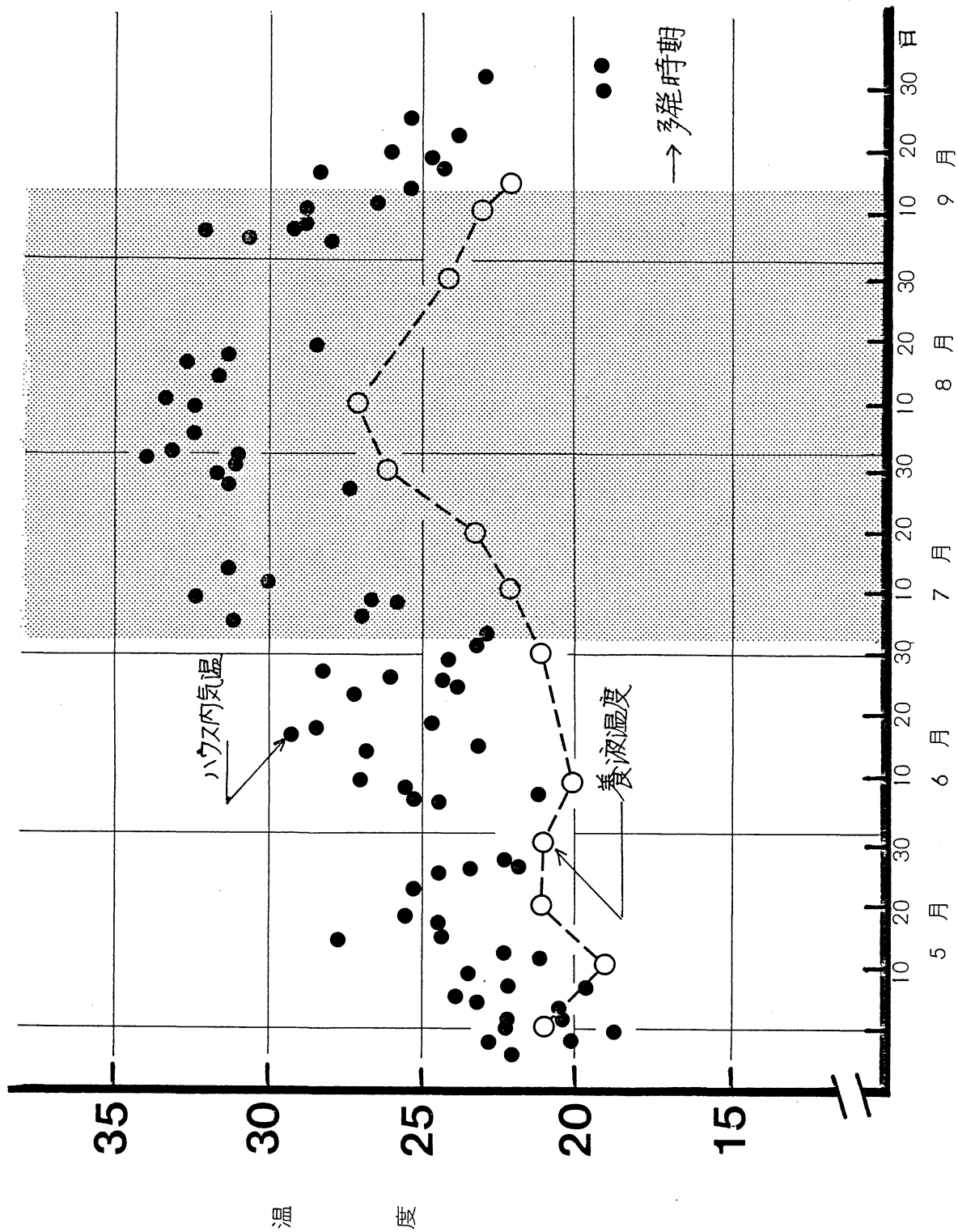
(1) Rhizoctonia solani による立枯病の発生生態と
病徴⁽⁶²⁾

発生状況と時期 ; ミツバの養液栽培にお
いて、育苗はかなりの密植栽培が行われてい
る。R. solani による立枯病は、この育苗期
間中に多発しており、株間を菌糸により次々
と伝染していく。病害発生状況は、養液栽培
装置の違いにより多少異なることはさきに述
べた。発病すると初発部位を中心として円型
に拡大していくため、侵された部分が、育苗
床でパッチ状となって現れる(図版1-1, 2)。

発生時期は、高温期にかぎられ、通常のハウス栽培の条件下では5月中旬より9月下旬頃まで認められる。最も多発するのは、6月～8月である。病害発生とハウス内の平均気温の関係を示すと図-1のように、25℃以上の気温条件下において著しい発生を認めた。

病徴；接種を行えば、ミツバの全生育段階において感染が認められる。しかし、圃場での発病は、子苗期（双葉展開期から本葉2-3葉期）に最も多発する。

子苗期での発病は、感染を受けた地際部、およびその葉柄部が水浸状となり、しだいに地上部へと病状が伸展し、葉柄全体さらに葉へと広がる。根における症状は、初期では顕著でなく、正常なこともある。収穫期近い植物の場合も子苗同様に、地際部の茎から葉柄へと病状が伸展する。侵された葉柄は、倒伏しやがて枯死する。しかし、菌核病のように株全体が倒伏し、軟腐症状となることはない。



四一 / 養液栽培施設における *Rhizoctonia solani* による立枯病発生と、ハウス内気温および養液温度。

また、病患部にくもの巢状に菌糸が生じ、菌核病(図版9-1)と区別される(図版1-1, 2)。

(2) Pythium 属菌によるミツバ立枯病発生
生態とその病徴^{66, 70)}

発生状況と時期 ; Pythium 属菌による立枯病は、養液栽培施設のうち水きを使用する形式のもので多発している。その発生状況は、R. solani の場合とは異なり、栽培槽の子苗全体にわたって立枯症状が認められる。激しい場合には、全滅することもある。病害の発生は、6月初旬より10月中旬まで認められ、とくに、7月、8月に多発する。この2か月間のハウス内気温は、37-41℃(最高気温)にも達しており、養液養液の液温も23-28℃(M式・協和式)と高温となることがあるので、比較的低温域(17℃)に生育適温を持つミツバにとってかなりの不良環境となっている。このような高温環境が発病を助長して

いる。すなわち、栽培槽に発生を認めると、3日-7日程度で発病水耕槽に接続していき槽全体に伝染し、やがて全滅する。

病徴； Pythium 属菌による立枯病は、ミツバ根部が主に侵される。本葉1-2枚の子苗の場合、感染初期には根の褐変がやや認められる（図版2-3）。やがて根は黒変し腐敗する。地上部は、感染初期に萎凋が認められ、やがて枯死する。本菌による病害は、子苗だけでなく成体に達した植物体にも発生し、全滅することもある。これら生育段階の進んだ植物の場合、感染をうけるとほとんどの根が黒変し、根腐れ症状となり地上部は萎凋枯死する（図版2-1, 2, 3-1, 2）。

Pythium 属菌によるミツバ立枯病は、ミツバのかなり広範囲の生育期間にわたって発生するが、現地において最も問題となっていているのは、発芽まもない幼植物の立枯であり、その対策が望まれている。

III-1-3. ミツバ立枯病菌の同定と菌学的性質

養液栽培においてミツバに立枯病を起こす病原菌のうち Pythium 属菌の形態的特徴、および培養上における性質について示し、あわせてその同定を以下に示す。

(1) 分離菌株の形態

ミツバ立枯病の病原性 Pythium 属菌は、^{CMA} PDA 培地上で白色の菌そうを示し、その菌糸は、無色、無隔壁である。気中菌糸は、^{CMA} MA 培地上でわずかに生じる程度であるが、^{PDA} PDA 培地上では、かなり生じ厚い菌そうを形成する。^{CMA} CMA 培地、^{SCH} SCH 培地上において、菌糸のところどころに不整型の器官を形成するが(図版4-2)、この器官は、0.1%のグルコース溶液中において発芽し、再び菌糸を生じる。

遊走子のうは、糸状であるが菌糸と区別可

ることには困難で、球のうは、この糸状の遊走子の先端または、側壁より生じた溢水管の先端に形成される。遊走子は、球のう内に分化するが、その数はきわめて多く100以上150個に達した(図版4-3)。図版4-4に本菌の被のう遊走子の発芽状態を示した。

有性器官の形成は、SCH 合成寒天培地、CMA 培地、V-8 シュース寒天培地及び素寒天培地上いずれにおいても認められなかった。

(2) 温度、pH を異にする条件下におけるミツバ立枯病菌の生育。

各温度条件下における本菌の培地上での生育を CMA 培地を用いて調べた。内径 90 mm のペトリ皿に 10 ml の培地を分注し、ミツバ立枯病菌を接種後 24 時間、各温度条件下で培養し菌糸伸長を測定した。分離株 CR-1 の

各温度条件下の生育を図-2に示した。24

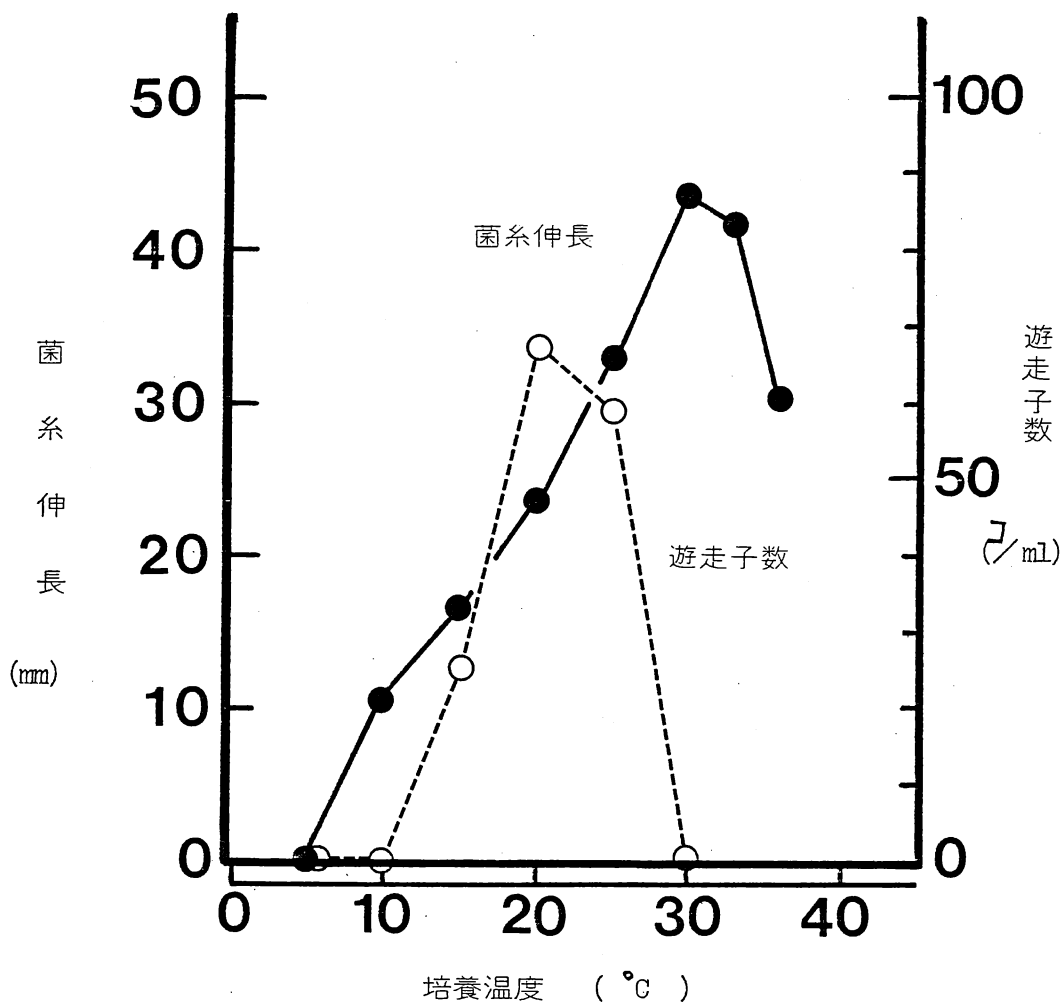
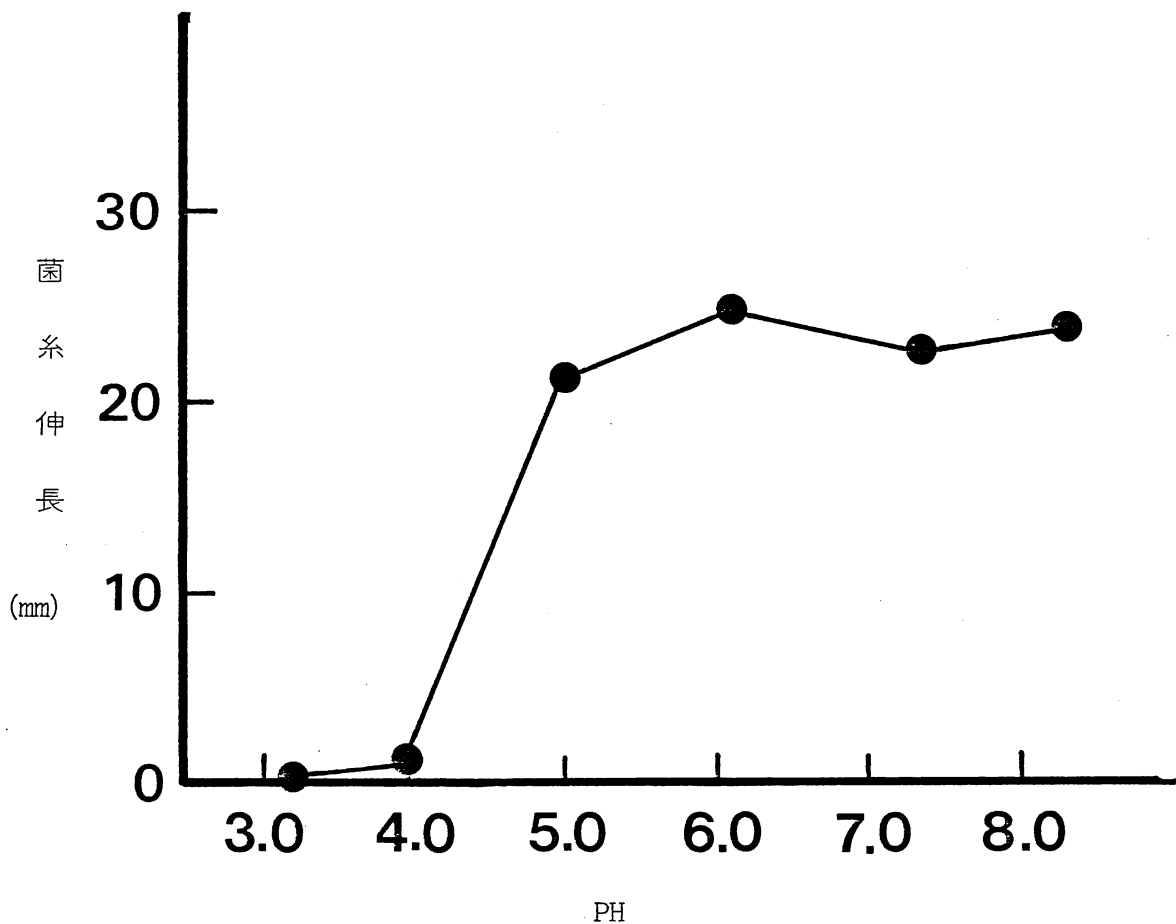


図-2. 培養温度とミツバ立枯病菌の菌糸伸長および遊走子形成数

時間後の測定では、10°Cから36°Cまでの広い温度範囲において生育し、30°C付近に至るまで生育温度を示した。生育は、25°C-36°Cの高温域で良好であった。CMA培地でのpHと生育の関係は、図-3に示した。pH 3.2-



四-3 . 培地のpHとミツバ立枯病菌の菌糸伸長

pH 8.0 の範囲で調べたところ、pH 5.0 - pH 8.0 の間で良好な生育を示したが、pH 4.0 以下では著しく生育が抑制された。

(3) 同定

本菌は、菌糸直径 $3.2 - 4.5 \mu\text{m}$ で菌糸と

はやや太い(4.0-6.0 μm)糸状の遊走子のうを有する。遊走子のうは、菌糸と同一の太さのものをあり区別するのは困難なこともある。遊走子は、糸状の遊走子のうより形成された球のう内に分化し、1球のう内に100-150コの遊走子を生じる。被のう遊走子の直径は、8.5-9.5 μm である。

本菌は、有性器官(卵胞子)の形成を認めないこと、および球形の休眠胞子の形成が認められないことから Pythium afertile より区別され、Waterhouse¹⁴⁵⁾ の検索表より Pythium imperfectum Höhnk と同定する。

ま と め

本菌の生育は、25℃以上の温度で急速に良好となり、30℃付近で最大となる。30℃以上の温度においても成育はおう盛であり、高温域において適温を持つ菌といえる。本菌による病害の発生も30℃以上の気湿条件下

において多発しており生育適温との間に相関が認められた。また本菌の生育と pH との関係は、酸性側 (pH 4.0) において著しく悪くなることが示された。ミツバの養液栽培では、養液の pH が 5.5 - 6.5 の間に調節されているので、病原菌にとって好適な生育環境にあるといえる。

本菌の特徴は、球のう内にまわめて多数の遊走子を分化することであり、これは、宮田ら⁽⁹²⁾も同様の観察を行っている。本菌が、養液栽培施設内に急速に伝染する原因はこの遊走子の形成が考えられる。

本菌は、供試されたいくつかの培地上において、30 日間培養した場合においても有性器官を形成しないことから、Waterhouse⁽¹⁴⁵⁾ の検索表に従って Pythium imperfectum Höhnk と同定した。

III-2. 高温環境下において発生するホウレンソウ立枯病と病原菌

ホウレンソウの盛夏時における栽培は、野菜の不足時期のため収益性がよく、最近栽培面積が増加する傾向にある。しかし、盛夏時の栽培は、長日による抽苔現象や、病害、とくに立枯病による被害が栽培を困難にしている。また、梅雨期の栽培では、病害発生が著しく、ほとんどの植物が立枯となることがある。そこで、これら高温環境下で発生するホウレンソウ立枯病とその病原菌、とくに Pythium 属菌による病害について調査した。

III-2-1. ホウレンソウ立枯病から分離された病原菌

本邦におけるホウレンソウの ^{96, 98, 102)} 土壌伝染性病害として、Rhizoctonia solani による立枯病、⁵⁹⁾ Aphanomyces cochlioides による根腐病、Fusarium oxysporum f.sp. spinaciae による萎凋病、⁹⁵⁾ および Phytophthora sp. による根腐れ病が知られていすが、³¹⁾ Pythium 属菌による立枯病は、病原菌、発生生態、およ

この病徴について不明な点が多く、記載がない。

内記らによ⁹⁸⁾ると、岐阜県下におけるホウレンソウの立枯病は、病原菌に季節的変動が認められ、高温期には、Rhizoctonia solani が高頻度で分離されるが、低温期には Pythium 属菌が分離されるという。また、奥田ら¹⁰²⁾も低温期のホウレンソウ立枯病からは、Pythium 属菌が分離されてくることを報告しており、Pythium 属菌による立枯病は、4-5月または、10-11月の低温多湿条件下で発生するとされてきた。³¹⁾ しかし、ホウレンソウに立枯病を起させると Pythium 属菌に関して記載と同定がなく、種、発生時期がまったく不明である。

大阪府下のホウレンソウ栽培圃場において、高温環境下で急速にまん延する立枯病が昭和52年頃より認められた。病原菌を分離したところ、Pythium 属菌が分離され、大阪府農林技術センター内の水耕施設においてもまた分離された。本病害は、今までに知られるホウレンソウ立枯病と比較して発生時期、状況も

異なっていた。そこで、本病害の病原菌、発
生生態について調査を行った。

材料と方法

大阪府下、東大阪市4カ所、八尾市1カ所
および農林技術センター内2カ所のホウレン
ソウ栽培圃場から、立枯病罹病植物を採集し、
病原菌の分離を行った。病原菌の分離は、罹
病植物の地際および根部を取り、次亜塩素酸
ナトリウム 0.5%水溶液に5分間浸漬後、
ST - CMA, ST - PDA 培地上に置床し、25°Cで2
- 5日間培養して行った。

実験結果

農林技術センター内の1カ所は、水耕栽培
実験用の施設であり、他のすべては土耕栽培
のものである。罹病植物の採集時期は、6月
下旬より9月中旬であり、分離された菌のう

ら病原性の認められたものの採集地と分離株、病原性について表-15に示した。

表-15 ホウレンソウ立石病罹病植物から分離された病原菌

分離地域	分離菌	保存株 No.	病原性	
中河内 (東大阪市) (八尾市)	A	<u>Pythium</u> sp.	SP- 1	+
		<u>Pythium</u> sp.	SP- 2	+
		<u>Pythium</u> sp.	SP- 3	+
		<u>Pythium</u> sp.	SP- 4	+
	B	<u>Pythium</u> sp.		-
		<u>Rhizoctonia solani</u>	RS-31	+
		<u>Rhizoctonia solani</u>	RS-32	+
	C	<u>Rhizoctonia solani</u>	RS-33	+
		<u>Rhizoctonia solani</u>	RS-34	+
	D	<u>Pythium</u> sp.		+
		<u>Pythium</u> sp.		-
	南河内 (大阪府農林技術 センター) (羽曳野市)	A	<u>Rhizoctonia solani</u>	RS-41
<u>Rhizoctonia solani</u>			RS-42	+
<u>Rhizoctonia solani</u>			RS-43	+
<u>Pythium</u> sp.			SP-10-1	+
B		<u>Pythium</u> sp.	SP-10-2	+
		<u>Pythium</u> sp.	SP-10-3	+
		<u>Pythium</u> sp.	SP-11	+

栽培環境と立枯病発生を比較すると、土壌湿度の高い圃場ほど多発する傾向が認められた。

病原菌の分離頻度は、Rhizoctonia solani が最も高く、次に Pythium 属菌であった。Pythium 属菌は、子苗から検出されなかったが、収穫期近い植物で萎凋しているものから分離された。

現地での Rhizoctonia solani , Pythium 属菌による病害発生を比較すると、Rhizoctonia solani は圃場の乾燥、湿潤に関係なく調査圃場すべてから検出されたが、Pythium 属菌は、土壌湿度の高い圃場で多く認められた。また、水耕施設の立枯罹病植物からは、Pythium 属菌のみが分離され、Rhizoctonia solani は検出できなかった（図版5-1, 2, 図版6-1, 2）。

Rhizoctonia solani , Pythium 属菌とも接種試験により病原性を調べたところ、ホウレンソウ子苗に強い病原性を示した。同一温度条件下において、両菌の発病までの時間を比較したところ、Pythium 属菌で48時間、Rhizoctonia solani

で 96 時間と要した。

ま と め

府下のホウレンソウ栽培圃場で、高温期に発生する立枯病は、主として Rhizoctonia solani、Pythium 属菌によるものであった。夏季のホウレンソウ立枯病に、Rhizoctonia solani が関係していることは、内記ら^{96,97)}が報告しているが、筆者は、Pythium 属菌による立枯病をかなり認めた。一般に Pythium 属菌の病害は、多湿土壌で発生しやすいが、夏季のホウレンソウ栽培に発生する立枯病においても同様の傾向を認めた。

つぎに、植物の生育時期と分離されてくる病原菌の種類について調べた。子苗期の立枯病からは、Pythium 属菌と Rhizoctonia solani のみ検出され、収穫期近い植物からは、これら2種類の病原菌は検出されなかった。すなわち、子苗期の立枯病には、Rhizoctonia solani、Pythium 属菌が関係している。

また、農林技術センターの実験用の水耕施設で発生したホウレンソウ立枯病は、昭和52年～昭和54年間に、Pythium 属菌に原因するものであった。

Ⅲ-2-2. Pythium butleri によるホウレンソウ立枯病^(69, 71)

(1) 病害発生と気温

Pythium butleri によるホウレンソウ立枯病は、高温環境下において急速にまん延し、水耕栽培の育苗床では、24時間以内に全滅するという被害を与えらる。これら立枯病は、6月下旬頃から多発するが、冬期に発生する本属菌による立枯病に比較して、伝染速度も早く被害も大きい。Pythium 属菌による立枯病は、低温期に発生するものが知られていさるが、高温期に激しい立枯病を起さるものについては知られていなさる。そこで、本菌による立枯病発

生と温度の関係について調べ、生育適温と発病について考察した。

材料と方法

供試菌として、ホウレンソウ立枯病菌分離株 SP-10-1 を用いた。病原菌は、遊走子を形成させるため、SCH 培地に接種し、 28°C で 7 日間培養した。遊走子は、培養菌そうを蒸留水に浸漬し、 23°C で 3 時間培養して得た。

遊走子は、蒸留水中に 2.4×10^4 個/ml の濃度となるように希釈し接種源とした。ホウレンソウ（品種バイキング）は予め殺菌されたパーミキュライトを含む 9 cm ポット上に接種し、7 日間 25°C で栽培し子苗を得た。接種源は、各ポット当たり 20 ml 接種し、ポットは、 12.5°C 、 15°C 、 20°C 、 26°C および 28°C の人工照明下のグローブキャビネット内において栽培した。

変温条件下の発病は、温度を連続可変でき

るグローブスキャベネット内において調べ、温度は、最高 25 °C, 最低 10 °C に調節した。

実験結果

各温度条件下におけるホウレンソウ立枯病の発生状況を、表-16 に示した。接種 48

表-16 ホウレンソウ立枯病と温度

温度 (°C)	立枯病発生状況 ^{a)}			
	接種 48 時間後		接種 5 日後	
	子苗立枯	気中菌糸 ^{b)}	子苗立枯	気中菌糸 ^{b)}
12.5	-	-	-	-
15.0	-	-	+	-
20.0	-	+	+++	++
26.0	+++	++	+++	+++
28.0	+++	++	+++	+++

- a) - ; 立枯植物は認められない
 + ; 10% 以下の立枯病率
 ++ ; 90% 以下の立枯病率
 +++ ; 90% 以上の立枯病率
- b) - ; バーミキュライト上に気中菌糸を認めない
 + ; 気中菌糸量少
 ++ ; 気中菌糸量多
 +++ ; 菌糸が植物全体をにおう。

時間後の調査では、 $26^{\circ}\text{C} - 28^{\circ}\text{C}$ の温度条件下で子苗すべてが立枯症状となり、バーミキュライト表面に気中菌糸を生じた。しかし、 20°C 以下の温度条件下では、発生を認めなかった。とくに、 15°C 以下の温度では、菌糸の発生を認めず、立枯病の発生も観察されなかった。接種5日後の調査では、 20°C 以上の温度で立枯病が発生したが、 $15^{\circ}\text{C} - 12.5^{\circ}\text{C}$ では、発生を認めなかった（図版7-1,2）。

変温条件下の発病は、表-17に示した。 $25^{\circ}\text{C} - 10^{\circ}\text{C}$ の変温条件下では、立枯病発

表-17 変温条件下におけるホウレンソウ立枯病の発生状況

温度条件	接種後の時間経過と発病状況 ^{a)}		
	48時間	120時間	216時間
25°C (8時間) - 10°C (16時間)	-	-	+
28°C 一定	+++	+++	+++

- a) - ; 発病を認めず。
 + ; 20%以下の子苗が立枯
 ++ ; 20-50%の子苗が立枯
 +++ ; 50%以上の子苗が立枯。

生ままでに9日間の日数を要した。

ま と め

各温度条件下における本菌による発病を調べたところ、25℃以上の温度条件下では、48時間でポットの子苗すべてを立枯症状とすることが示され、本菌による病害は、高温ほど発病が著しいことが観察された。また、本菌による立枯病の発生は、低温になるほど長時間を要するが、12.5℃では発生をまったく認めなかった。また、変温条件下の実験から、低温期間を与えることにより本菌による立枯病発生が減少することから、本菌による病害は、冬期に発生しないと判断される。

本実験では、バーミキョライト上に生育したホウレンソウ子苗に遊走子を接種したものであり、温度調節は、接種後に行った。そのため、温度は感染後の発病に影響を与えていると考えられる。温度が、病原菌の生育、繁

殖にどのように作用しているかについて今後検討を必要とする。

(2) ホウレンソウ品種と立枯病発生

ホウレンソウには、日本種、洋種を含め多数の品種が知られている。本菌による病害防除上、抵抗性品種、感受性の高い品種を知ることが重要である。そこで、各品種について、本菌に対する罹病度を比較した。

材料と方法

接種源 ; 供試菌分離株 SP-10-1 を直径 9 cm のペトリ皿に分注した 10 ml の CMA 培地 (Difco 製) に接種後、30 °C で 5 日間培養し、ペトリ皿 3 枚分を 1000 ml の蒸留水中で磨砕したものを接種源原液とした。

病原菌の接種 ; 接種源原液を 50 ml / ㎡ の割合で接種する高濃度接種区と、3 倍

に希釈して 50 ml / ホットの濃度で接種する
低濃度接種区の 2 接種濃度について調査した。

立枯病の発生は、病原菌を接種後、30℃
のグロースキャビネット（湿度 80%）内で
5 日間栽培し調査した。

なお、本実験に供試したホウレンソウ品種
は、ニューサッポロ、アトラス、パンファイッ
ク、バイキング、キングオブデンマーク、若
草、日吉丸、および牛若丸である。ホウレン
ソウ種子は、ケミクロン G 100 倍液中に 15
分間浸漬後、30 分間流水中にて水洗し、一
夜水道水に浸漬、あく抜きを行った。種子は、
水を切ったあと、4℃に一昼夜置いて低温催
芽したものを接種した。

実験結果

各ホウレンソウ品種に対する P. butleri による
立枯病発生状況は、表-18 に示した。

高濃度接種区では、発病が著しく供試品種

表-18 ホウレンソウ各品種における Pythium butleri による立枯病発生状況

供試品種	立枯病発生状況 ^{a)}	
	低濃度接種源	高濃度接種源
ニューサッポロ	+	+
パシフィック	++	+++
アトラス	++	+++
バイキング	++	+++
キングオブデンマーク	+	++
若草	+	++
日音丸	++	+++
牛若丸	++	+++

- a) + ; 50 % 以下の立枯病発生率
 ++ ; 50 - 80 % の立枯病が発生
 +++ ; 80 % 以上の立枯病発生率.

間に全く差が認められなかった。しかし、低濃度接種区においては、ニューサッポロ、キングオブデンマーク、若草で発病がやや少い傾向が認められた。本実験において供試品種中には、明瞭な抵抗性品種は認められなかったが、日音丸、バイキングにやや感受性の高い傾向が認められた。

(3) 各温度条件下におけるハウレンソウ立枯病菌の生育

Pythium 属菌は、種によって生育最高温度、生育適温、生育最低温度にかなりの違いが認められ、生育最高温度によりいくつかの群に分類されている。

ハウレンソウ立枯病は、ハウス内の高温環境下で多発している。本菌の生育適温について知ることは、発病と環境の関係を考察し、Pythium 属菌を同定する上においても重要である。

そこでホウレンソウ立枯病菌数分離株について、各温度における生育を調べた。

材料と方法

供試菌として SP-10-1, SP-10-2, および SP-10-3 を用いた。比較のため高温に生育適温を持つ Pythium aphanidermatum 大阪府立大学保存菌株 19 号菌 (キュウリより分離) と 農林技術センター保存株 PT-1 (トマト立枯病より分離) を供試した。

接種源は、直径 9 cm のペトリ皿中に分注した 10 ml の CMA (Difco 製) 上で 28 °C 5 日間培養した菌そうを供試した。各温度条件下での生育は、9 cm のペトリ皿中に 10 ml CMA 培地を分注し、接種源より菌そうを 4 mm の円盤とし、ペトリ皿中央に接種、24 時間後の菌糸伸長を調べた。

実験結果

各温度条件下における供試菌の生育は、表-19に示した。ホウレンソウ立枯病分離株は、いずれも生育適温が $35^{\circ}\text{C} - 38^{\circ}\text{C}$ と高温であった。生育最高温度は、ホウレンソウ立枯病菌で $44^{\circ}\text{C} - 47^{\circ}\text{C}$ 、P. aphanidermatumで $43^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$ であった。

供試菌株は、いずれも低温での生育はきわめて悪く、 15°C 以下では48時間の培養によっても生育を認めなかった。

表.19 各温度条件でのホウレンソウ立枯病菌の生育.

培養温度 ($^{\circ}\text{C}$)	培地での菌の生育 (mm)		
	SP-10-1	No. 19 *	PT - 1 *
10	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0
18	7.8	9.5	- **
20	-	12.0	15.0
25	-	-	19.0
27	14.8	18.5	22.0
33	24.0	25.0	25.0
38	27.5	26.5	24.5
40	15.7	14.0	9.5
43	4.2	5.0	3.0
45	-	0.0	0.5
46	0.4	-	0.0

* ; Pythium aphanidermatum

** ; 測定せず

Ⅲ-2-2. において、本菌による立枯病が、
15℃以下の温度条件下においてほとんど発
生しないことを示したが、これは、本菌の生
育が低温条件下において著しく悪いことによ
るものと思われよう。すなわち、本菌による立
枯病発生には、高温による病原菌の生育助長
が原因となっている。

Ⅲ-2-3. ホウレンソウ立枯病菌の同定

Pythium 属菌によるホウレンソウ立枯病に関
する報告は、いくつか知られている。しかし、
既往の報告にみられる Pythium 属菌による立枯
病は、気温の低い時期に発生するといわれ、
また種名が不明である。筆者の調査した本属
菌によるホウレンソウ立枯病は、高温期に発
生しており、過去の報告にみられる低温期に
発生する病害とは異なる。そこで、本病害の
原因となっている Pythium 属菌の形態を記載し
種の同定を行った。

(1) ホウレンソウ立枯病菌の培地における形態

分離菌株 SP-10-1 は、PDA 培地、CMA 培地上で良く生育し、菌糸は白色で気中菌糸を多数生じる。有性器官の形成は、SCH 培地 28℃、5日間の培養期間では認められないが、CMA 培地上では少し認められる。SCH 培地上では、30℃、5日間の培養できわめて多数の卵胞子が形成される。

卵胞子は、菌糸より分岐した菌糸の先端に形成された造卵器内に通常1コ形成される。造卵器は、ほとんどすべて頂生であって周生のものは認められなかった。造卵器は、ほぼ球形で、その表面は滑らかであり直径 $21\mu\text{m}$ - $28\mu\text{m}$, 平均 $27\mu\text{m}$ であった。

造卵器内には、1コの卵胞子が認められる。卵胞子は、造卵器内に不充満性であり、直径 $17\mu\text{m}$ - $23\mu\text{m}$ 平均 $22\mu\text{m}$ であった。

造精器は、造卵器に通常1コ付着、まれに

スコ付着してあり、そのほとんどは間生である。また、造精器は造卵器の付着している菌糸に形成されることはなく、別の菌糸より生じており、いわゆる異株性 (diclinous) である。造精器は比較的大きく、タル形、つり鐘形で、こん棒状のものは認められなかった。

胞子のう (遊走子のう) は、菌糸のどこどこに形成され、菌糸よりやや太く複雑に分岐した不規則な形をしていゝ。遊走子は、胞子のうを水中に3時間程度浸漬すると形成され、1コの球のう内に20コ-30コ生じゝ。なお本菌の形態は、図版8に示した。

(2) ホウレンソウ立枯病菌の造卵器の大きさ

供試菌株は、(1) と同様の菌株を用いた。有性器官形成のための培養は、SCH 培地を用いた。30℃ 10日間の培養を行い得られた卵胞子について測定を行った。

各供試菌株 (SP-10-1 , SP-10-2 , SP-10-3) の造卵器の平均直径, 長径) は, それぞれ 27.65 μm , 26.34 μm , 27.08 μm といずれも 26 μm 以上であった。一方, 対照として供試した, P.aphanidermatum 大阪府立大学 19 号菌によい, PT-1 菌株の造卵器直径 (長径) は, 24.4 μm , 24.20 μm といずれも 25 μm 以下であった。

これら, 2つの Pythium 属菌グループの造卵器直径 (長径) について, 分散分析を行ったところ, 各グループ内の測定値に差を認めなかった (95% 精度)。しかし, 両グループ間の菌株には, 有意な差が認められ, 造卵器の最大直径に差がみよことが示された (表-20, 21, 22)。

表-20 ホウレンソウ立根病菌分離株 Pythium butleri (SP-10-1, SP-10-2, SP-10-3) の造卵器最大直径の分散分析表

変動の原因	自由度	変動	不偏分散	F 値
全 体	132	1656.2		
処理(級間)	2	40.9	20.4	1.64
残差(級内)	130	1615.3	12.4	

表-21 Pythium aphanidermatum 2菌株の造卵器
の測定値に対する分散分析表

変動の原因	自由度	変動	不偏分散	F 値
全 体	107	1113.9		
処理(級間)	1	1.2	1.2	0.11
残差(級内)	106	1112.7	10.5	

表-22 ホウレンソウ立枯病菌 Pythium butleri (SP10-1) と Pythium aphanidermatum の造卵器の測定値に対する分散分析表

変動の原因	自由度	変動	不偏分散	F 値
全 体	122	1500.0		
処理(級間)	1	321.0	321.0	32.9
残差(級内)	121	1178.0	9.7	

表-23 ホウレンソウ立枯病菌 Pythium butleri (分離菌株 SP10-1)
の培地における各器官の平均測定値

器官名称	測定値(平均)
菌 糸	3 - 10 μm
遊走子のう	30 - 120
被のう遊走子	10.7
造卵器直径(長径)	27.7
卵胞子直径	22.4

なお、ホウレンソウより分離された SP-10-1 菌株の各器官の平均測定値を表-23 に示した。

(3) 同 定

Pythium butleri Subramaniam は、Subramaniam により 1919年インドにおいて、ショウガ、タバコ、パパイヤに寄生する菌として発見された。Middlton⁸⁶⁾ によると P.butleri は、形態的に Pythium aphanidermatum と類似しており両者を区別するのは困難であるとしている。1928年、Mitra と Subramaniam は、P.butleri を P.aphanidermatum の一系統としたが、Drechsler は、両種を区別して認められており、両者を分ける根拠を次の点としている。

- 1) P.aphanidermatum の遊走子のうは、P.butleri に比較して小形で、分岐が少ないこと。
- 2) P.aphanidermatum の遊走子は小形で $9\mu\text{m}$ であるのに対し P.butleri の遊走子は 11

μm とやや大型である。

- 3) P. aphanidermatum の造卵器は、平均 22-23 μm であるのに対し、P. butleri のそれは 27 μm と大型である。

しかし、両種間には、病原性について差がなく、同一種とすゝ考え方もある。

Waterhouse による 1967 年の Pythium 属菌検索表¹⁴⁵⁾ では、P. aphanidermatum と P. butleri は、別種として記載されておゝり、両種を区別する基準に、次の 2 点をあげてゐる。

- 1) 造卵器の直径。
- 2) 造精器の由来、すなわち、P. butleri が異株性 (diclinous) であるのに対し、P. aphanidermatum は同株性 (monoclinous) である。

Waterhouse の分類検索表では、造卵器、卵胞子、遊走子の大きさを種を区別する基準として扱ってゐる。この点について、Hendrix^{40, 41)} らは、培養法、保存法によつて、胞子の大きさに差が生じるとして批判的である。

生物分類は、類似点を見い出す方法と、相異点を見い出す方法の二つの方法がある。

Pythium 属菌の分類は、形態分類にもとづく方法に重点が置かれており、区別でき得る形態的相異点認められた場合別種として記載する必要があり、とくにその分類体系の明瞭でない本属菌では、各々の種について詳細な記載をして残しておく必要があり、こうした記載の蓄積により、あらゆる分類体系が可能と思われよう。

Pythium aphanidermatum は、本邦において各種作物子苗立枯病菌として同定記載されているが、Pythium butleri については知られていない。本邦において、Pythium aphanidermatum は、単に不整形の遊走子のうを持ち、 $25\mu\text{m}$ 以下の大きさの造卵器を持つ菌としてのみ扱われ、Drechsler, Waterhouse らの示している相異点については詳細に比較されていない。

ホウレンソウより分離された Pythium 属菌は、表一 23 に示すように、造卵器が大きく

(27 μm), 造精器の由来が異株性であり、本菌と大阪府立大学の P.aphanidermatum とを比較した場合、造卵器の大きさ、遊走子のうの形態に異なった点を認める。

筆者は、表-24 に示した両群の形態的測定値、すなわち、遊走子のう、遊走子、造卵器の大きさの違い、および、Waterhouse, Drechsler の示した分類上の差異、すなわち、造卵器の頂性、異株性の造精器の形成方法、およびその形態の明瞭な差異から、両者は異なる自然分類群に属するものと考え、Pythium butleri Subramaniam を有効な種と認めた。

今後、Pythium 属菌の分類体系について、二分法による同定基準の見直しや、分類的再検討も必要となろう。

III-3. 考 察

ミツバに発生する立枯病は、養液栽培、土壌栽培といった異なる栽培形態において共通

Pythium aphanidermatum, P. butleri の造卵器、卵胞子、被の遊走子、核の遊走子、核の比較

P. aphanidermatum

報告者	造卵器直径(μm)	卵胞子直径(μm)	被の遊走子(μm)	造精器の由来
Edoson (1915)	22-27	17-19	9:0 ¹⁰⁰	
Meurs (1934)	16.7-(22.9)-28.7	15.6-(20.5)-26.2		
Tasugi (1934)	16.2-(23.3)-30.5	12.4-(18.8)-24.8		同株性 異株性
Midlton (1943)	15.1-(26.0)-32.3	12.1-(19.8)-28.4		同株性 異株性(まれ)
Kusakari (1979)	17.7-(24.7)-28.2	16.3-(21.3)-23.2		
Waterhouse (1967)	16-(22)-30			同株性

P. butleri

報告者	造卵器直径(μm)	卵胞子直径(μm)	被の遊走子(μm)	異株性 異株性
Subramaniam (1919)	18-(26)-33	13.5-(21)-25.3	7-11	
Waterhouse (1967)	16-(27)-33	-	11	
Kusakari (1979)	21.3-(27.7)-28.2	17.4-(22.4)-22.6	10.7	

して認められる。これら病害の原因となる病原菌を調査したところ、養液栽培、土壌栽培において発生する病原菌とその発生状況に特徴のあることを認めた。

養液栽培で発生するミツバ立枯病の病原菌として、Pythium imperfectum、Rhizoctonia solani の2種類が認められたが、被害が大きく栽培上問題となつていゝのは、P. imperfectum によるものであった。しかし、土壌栽培では、R. solani による立枯病がほとんどで、Pythium 属菌による立枯病は認められる、栽培形態の異いにより、発生する病原菌に異いが認められた。

とくに、べんも菌類である Pythium 属菌による病害が、養液栽培において多発することは、発生と環境から興味をもたれる。これら両病原菌による立枯病は、栽培環境の差異による分布の異い以外に、発生状況にも差が認められた。

土壌栽培で発生する立枯病（すなわち R. solani による立枯病）は、被害も少く、急激

に圃場にまん延することはない。しかし、養液栽培において発生する P. imperfectum による立枯病は、発生後急速にまん延する。これは、R. solani が、主に菌糸により伝染していきため、養液栽培において発生した場合においても、作物体の地上部分を侵しながら円形に広がる。これに対し、P. imperfectum は養液中に遊走子を生じ、槽全面にわたって発生する。

IV. Pythium 属菌の生活環と栽培環境.

IV-1. 養液栽培における Pythium 属菌の病害と遊走子

遊走子は、べんも菌類の生活環において重要な役割を演じている。Plasmodiophorales , Chytridiales などの下等な植物病原菌では、感染植物の組織中に形成された休眠胞子が遊走子発芽して、次の感染原因となる³⁾。また、Peronosporales , Albugo 属 および Pythium 属の一部 (P. butleri , P. debaryanum)では、やはり休眠器官である卵胞子が遊走子発芽することが知られており、⁴³⁾ 一次感染においても遊走子が関与している可能性がある。

一般に Pythium 属菌, Phytophthora 属菌では、遊走子が分生胞子としての役割をはたしており、二次感染源として病害のまん延の原因となっている。⁴²⁾ とくに、両属菌による病害は、遊走子により、^{42, 42)} 土壤溶液, 漕がい水中, ^{53, 84, 139)} および,

培養液など、水を介して伝染し、被害が大
きい。^(42, 139)

遊走子は、自己の運動のほか、根から分泌
される糖、アミノ酸、などに誘引され、短時
間で根の表面に集積し、感染源としての潜在
能力を増加する効果を示す。^(48, 58, 113)

このように、遊走子は、植物体に感染する
時、きわめて能率的な機能を有しており、ペ
ンモ菌類の病害発生上重要な存在となってい
る。

そこで、Pythium 属菌による病害のうち、特
殊な栽培環境である養液栽培で多発するミワ
バ立枯病について、その遊走子の感染に及ぼ
す役割を調べ、これを防ぐことによる病害防
除法について検討した。

IV-1-1. Pythium imperfectum の遊走子形成と 温度、pH の関係

本菌の遊走子形成を、直径 90 mm のペトリ

皿に分注した 10 ml の SCH 培地上で 7 日間 28 °C で培養した菌そうを供試し調べる。

遊走子形成のため直径 15 mm のユルクボラーを用い、菌そうから同一直径の円盤 (disk) を調製した。これを、5 ml の蒸留水中に浸漬し、各温度条件下で 3 時間培養し、蒸留水中に放出された遊走子とトーマ血球計を用いて計数した。遊走子の計数は、5% 酢酸を滴下し、遊走子を被膜うさせたのち行った。

各温度条件下における遊走子形成数を、図 2 に示した (III-1-3.(2))。遊走子形成は、20 °C - 25 °C の温度範囲においては良好であるが、30 °C 以上の温度では形成を認めなかった。遊走子形成は、蒸留水中に菌そうを浸漬すると急激に起り、浸漬後時間後に球のう形成が開始された。遊走子のうより生じた溢水管を通じて、原形質は球のうへ移動を始め、ほぼ 5 分で完了した。その後球のう内では、遊走子の分化が始まり、15 - 20 分間

で遊走子が形成され、球のう内で運動始めるのが観察された。やがて、遊走子は、球のうより放出されるが、菌そうと蒸留水に浸漬してからほぼ2.5-3時間以内に遊走子形成は完了した(表-25)。

表-25 蒸留水中における *Pythium* sp. の遊走子形成までの経過

時間(分)	現象
0	菌そうを蒸留水中に浸漬
105	球のう形成を開始
125	原形質の球のう内への移動開始
130	原形質の球のう内への移動完了
138	原形質凝集
146	遊走子形成完了
149	遊走子放出

遊走子の形成は、温度以外、pHによっても影響をうける。pHと遊走子形成の関係は、図-4に示した。*P. imperfectum* の遊走子形成は、pH 5.0 - pH 8.0 の範囲では、ほとんどその形成数に差を認めないが、pH 5.0以下になると著しい形成数の減少が認められ

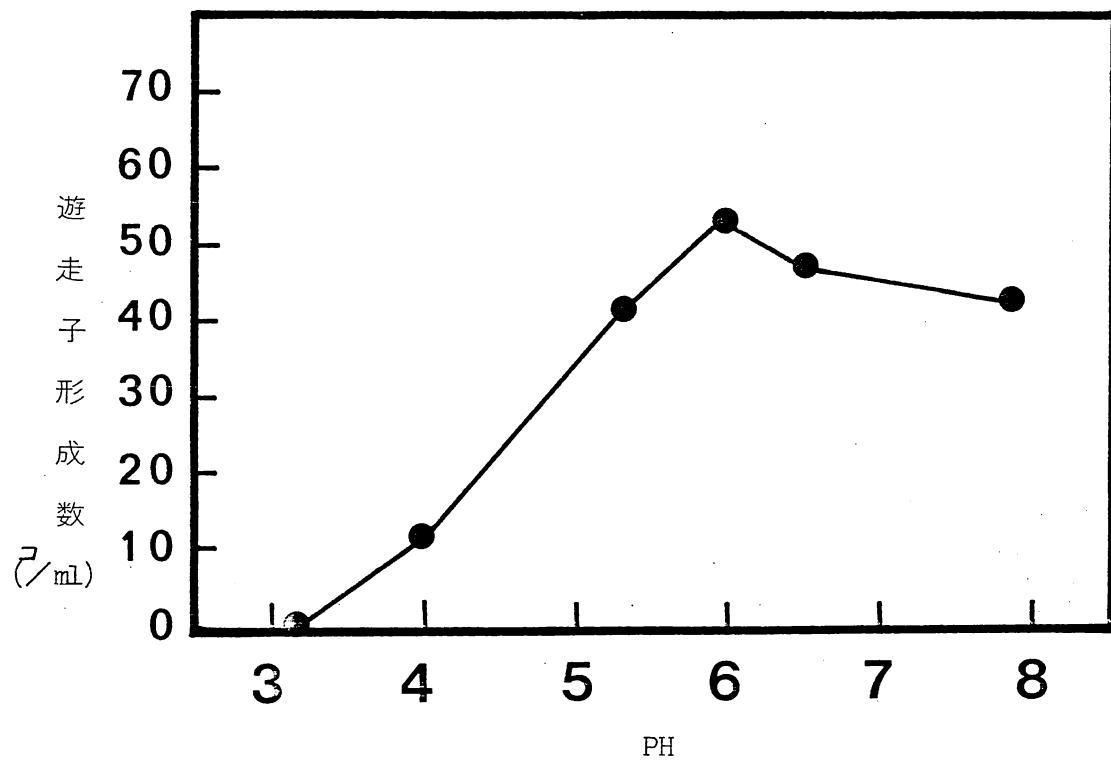


図-4. ミツバ立枯病菌の遊走子形成とpH.

た。

IV-1-2. 培養液濃度と発病.

現地におけるミツバ立枯病の発生を調査したところ、培養液濃度を高く（1.5単位－2.0, 単位：単位についての説明は後述）して栽培している養液栽培では、病害発生が少い傾向が認められた。また、同様に養液のpHが低い養液栽培においても発生の少い傾向が観察された。そこで、本菌による病害発生と、培養液の濃度、およびpHの関係について調査した。

材料と方法

供試病原菌 ; ミツバ立枯病菌 P. imperfectum
(分離菌株 CR-1), およびホウレンソウ立枯病菌 P. butleri (分離菌株 SP-10-1) の2種類を供試した。

養液栽培 ; ミツバとホウレンソウの養液栽培は、 $1/5,000$ a のワグナーポットを利用して作製したモデル水耕装置（図-5）を

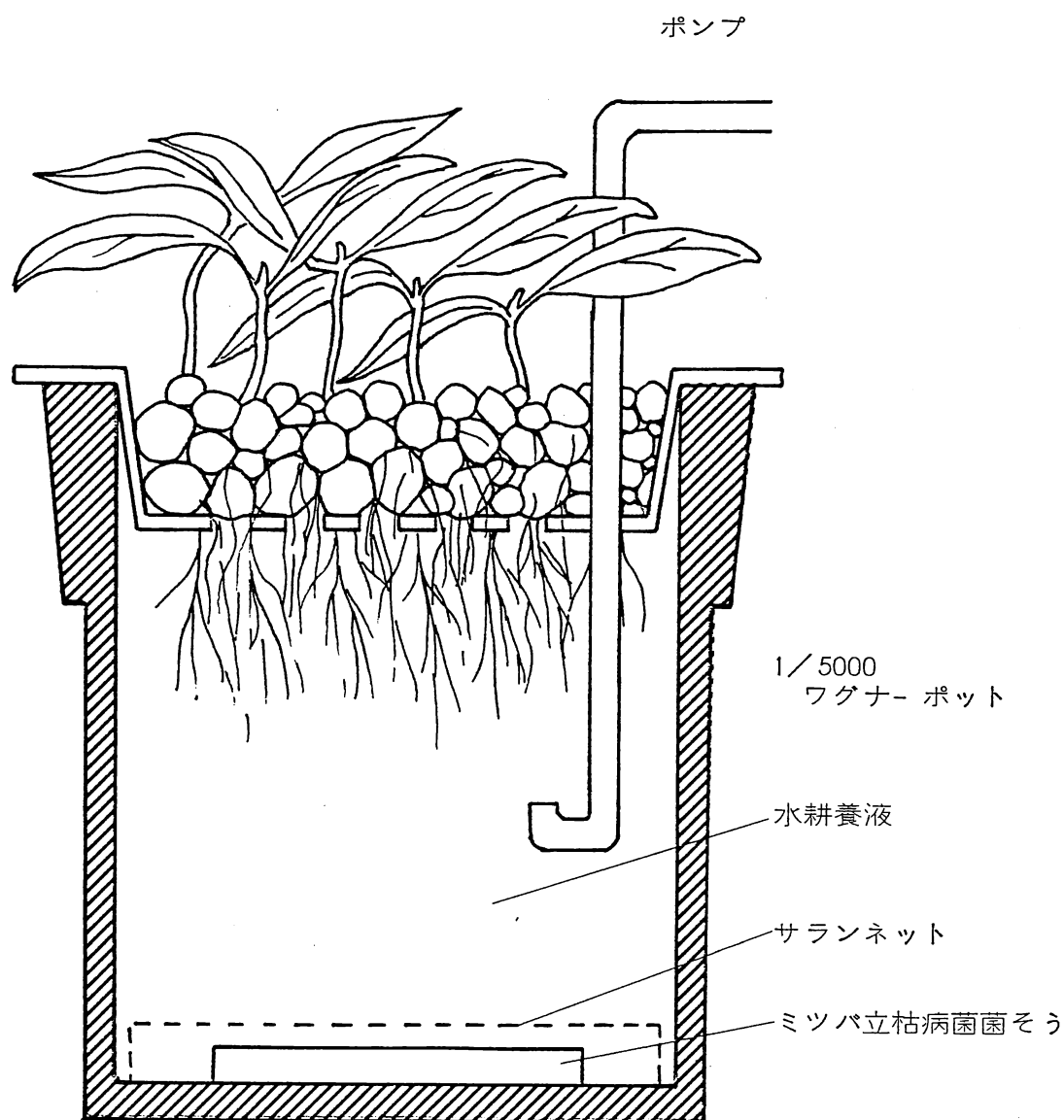


図-5 . ワグナーポットによるモデル水耕装置と病原菌（ミツバ立枯病菌）接種方法

用いて行った。培養液は、園芸試験場雙津
処方の均衡培養液を用い、濃度は、標準養液
を1単位 ($EC = 2.2 \text{ mV/cm}$) とし、4倍希釈
のものを1/4単位 ($EC = 0.5 \text{ mV/cm}$)、2倍
液を2単位 ($EC = 4.1 \text{ mV/cm}$)、および3倍
の濃度のものを3単位 ($EC = 6.4 \text{ mV/cm}$) と
して用いた。

ミツバ (品種: 大阪白莖) の種子は、3日
間流水中に浸漬し、よく抜きを行ったあと、
ケミクロンG 100倍液で15分間種子消毒
を行った。また、ホウレンソウ種子は、III-2
-2 (2) で示した方法により消毒、催芽処理
を行った。

ミツバとホウレンソウ種子は、モデル水耕
装置の水き上に播種し、 30°C のケロースキ
ャビネット内で栽培を行った。通気は、空気
ポンプにより、1時間間隔で10分間行った。

病原菌の培養 ; 供試菌は、SCH培地で培
養した。両菌は、寒天培地に接種後 28°C で

7日間培養し、菌そうを接種源として供試した。

水耕装置への病原菌の接種；各培養液濃度下における、遊走子形成と発病の関係を調べよために、モデル水耕装置のポットの底部に寒天培地上に生育した菌そうを沈め、菌そうから生じる遊走子によって感染が起るようにした。

また、遊走子濃度と発病との関係を調べるために、調製した各濃度の培養液中に遊走子を $2.4 \times 10^3 / \text{ml} \sim 1.6 \times 10^4 / \text{ml}$ となるように接種し、催芽種子を播種した。

ミツバの場合 30°C で10日、ホウレンソウでは、 30°C で3日後に行い、それぞれ立枯病発生状態を4段階に分けて記録した。

実験結果

遊走子形成による発病；培養菌そうから、

養液中に遊走子を形成させる方法により、立枯病の発生を調べたところ、 $1/4$ 単位～ 1.5 単位の濃度区でほぼ 100% に近い発生を認めめたが、高濃度の培養液ほど発病までに時間を要し、 2 単位以上の養液濃度においては、立枯病の発生を認めなかった。

高濃度の培養液中における立枯病発生の抑制は、共通して認められ、とくにミツバでは、養液濃度上昇に従って立枯病発生が著しく減少した(表-26)。ホウレンソウ立枯病は、

表-26 養液栽培におけるミツバ立枯病の発生と養液濃度

培養液濃度 (単位)	処理区数	発病区数	発病率(%)
蒸留水	30	22	73.3
$1/8$	30	29	96.7
$1/4$	30	23	76.7
$1/2$	30	12	40.0
1	30	8	26.7
2	30	0	0.0

養液濃度が2単位に下るとかなり抑制されるが、7日以上の栽培では立枯病の発生を認めた(表-27)。

表-27 養液栽培におけるホウレンソウ立枯病の発生と養液濃度

培養液濃度 (単位)	発病度 [*]	発病率 ^{**}
3	0.2	5.0
2	0.4	10.0
1	2.4	60.0
1/2	2.4	60.0

$$* ; \text{発病度} = \frac{\sum (0 \cdot X_1 + 1 \cdot X_2 + 2 \cdot X_3 + 3 \cdot X_4)}{X_1 + X_2 + X_3 + X_4}$$

発病度は4段階(0:微, 1:少, 2:中, 3:甚)評価とした。

** ; 発病率は評価3を100%としたときの値。

養液中への遊走子濃度と発病 ; ミツバ立枯病菌遊走子を各濃度の培養液中に接種し、立枯病の発生を調べたところ、養液濃度の高い、2単位、3単位区において発生が減少す

る傾向を認められた。しかし、遊走子濃度の高い場合 (1.6×10^3 コ/ml, 1.6×10^4 コ/ml) では、培養液濃度に関係なく立枯病の発生を認められた (表-28)。

表-28 各培養液濃度中への遊走子接種によるミツバ立枯病の発生

培養液濃度 (単位)	各遊走子濃度(コ/ml)における発病度*		
	1.6×10^2	1.6×10^3	1.6×10^4
蒸留水	1.86	2.71	2.63
1/2	2.20	2.50	2.83
1	1.83	2.33	2.67
2	0.67	2.17	2.33
3	0.17	1.17	2.33

* : 表-27 に準ずる。

また、ホウレンソウ立枯病菌を用いて、ガラス管ビン中で立枯病発生と、養液濃度の関係について調べたところ、3単位以上の水耕養液濃度では、立枯病の発生を認めなかった。

しかし、ホウレンソウ立枯病菌の場合も、遊走子濃度が、 2.4×10^3 コ/ml の高濃度となった場合、培養液濃度に関係なく立枯病の発生が認められた(表-29)。

表-29 各培養液濃度条件下における遊走子濃度とホウレンソウ立枯病の発生。

培養液濃度 (単位)	各遊走子濃度(コ/ml)における発病度*		
	2.4×10	2.4×10^2	2.4×10^3
蒸留水	4.0	4.0	4.0
1	4.0	4.0	4.0
2	0.6	1.9	4.0
3	0.0	0.3	4.0

$$* : \text{発病度} = \frac{\sum (0 \cdot X_1 + 1 \cdot X_2 + 2 \cdot X_3 + 3 \cdot X_4 + 4 \cdot X_5)}{X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5}$$

発病度の評価は、(0:無し, 1:微, 2:少, 3:中, 4:甚)とした。

高濃度培養液中における立枯病発生減少は、遊走子を養液中に接種後、植物を移植するまでの時間経過が長い程顕著にあらわれ、植物を移植したのうち遊走子を接種した場合に

は、高濃度養液中においても高い発病率を示した。

培養液の pH と発病 ; 培養液中にホウレンソウ立枯病菌を接種した場合の養液 pH と発病の関係は、表-30 に示した。立枯病の発生は、養液の pH が 4.5 以下になると著しく減少し、pH 4.0 ではほとんど発生を認めなかった。しかし、pH 5.0 - pH 8.0

表-30 培養液の pH とホウレンソウ立枯病の発生

培養液の pH	発病度 ^{a)} と遊走子濃度	
	$2.4 \times 10^2/\text{ml}$	$2.4 \times 10^3/\text{ml}$
3.5	0.8	2.2
4.0	0.8	2.2
4.5	2.2	3.0
5.0	2.0	3.0
5.5	2.4	3.8
6.0	3.0	4.0
7.0	2.6	4.0
8.0	2.2	4.0

$$a) \text{ 発病度} = \frac{\sum (0 \cdot X_1 + 1 \cdot X_2 + 2 \cdot X_3 + 3 \cdot X_4 + 4 \cdot X_5)}{X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5}$$

表-29に準ずる。

の範囲内では、pH に関係なく高い発病率を示した。

ま と め

現地を調査したところ、*P. imperfectum*によるミツバニ枙病は、培養液濃度の高い栽培施設において発病が少い傾向が認められた。エテル水耕装置を用いて、培養液濃度と発病の関係を調べたところ、現地同様、養液濃度の高い場合、発病が抑制される結果が得られ、本菌による病害発生は、培養液濃度に影響されることを確認した。

本菌による病害発生と培養液濃度の関係を、病原菌の接種方法を変えて調べたところ、形成された遊走子を接種する場合と、菌そうを接種し、培養液中で遊走子を形成させる場合のいずれにおいても高濃度養液中で発病が抑制された。また、管ビン中において、遊走子接種による発病法を用いて、遊走子濃度

と遊走子接種後植物を移植するまでの時間と発病の関係についても調査した。遊走子濃度が高くなると培養液濃度に関係なく発病し、また、植物を移植したのちに遊走子を接種した場合についても養液濃度との関係は認められなかった。以上の実験結果から、遊走子による発病は、養液中に形成される遊走子数と、遊走子が高濃度の養液中に置かれている時間の二つから影響を受けている。とくに、高濃度の培養液は、遊走子の形成に何らかの影響を与えているのではないかと考えられた。次に、培養液濃度と遊走子形成について調べた。

IV-1-3. 培養液中における Pythium butleri と Pythium imperfectum の遊走子形成

高濃度の培養液中における立枯病の減少が、遊走子形成数の減少、あるいは、遊走子の運動性などの感染性の減少によるものかについ

て不明であった。そこで、両病原菌の遊走子形成と養液濃度との関係と、遊走子の高濃度養液中での行動について調査した。

材料と方法

供試病原菌とその培養 ; IV-1-2. と同様である。

培養液中での遊走子形成 ; 両病原菌の遊走子形成は、菌そうを蒸留水中に浸漬することにより起こすが、本実験においては、培養菌そうより直径 2 cm の寒天円盤を取り出し、各濃度の培養液中に浸漬する方法と、菌そうよりはく離れた菌糸を蒸留水で洗浄後、培養液中に浸漬する方法を用いた。寒天円盤から溶出する培地成分の量は、円盤を蒸留水に浸漬し、23 °C で 5 時間後に溶出する Mg^{2+} 、 K^+ イオン量を原子吸光分析 (日立 518 型原子吸光分析器) に定量し参考とした。

遊走子形成数は、寒天円盤を溶液中に浸漬

後 23℃で5時間培養し、収められた遊走子数を計数した。

実験結果

培養液各濃度中における寒天円盤菌そうからの遊走子形成数を、表-31に示した。

表-31 培養液濃度中におけるミツバエ病原菌の遊走子形成数

培養液濃度(単位) ^{a)}	遊走子形成数
蒸留水	30.67 x 10 ⁴ /ml
1/8	33.50
1/4	37.67
1/2	22.60
1	20.16
1.5	14.00
2	0.67
2.5	0.0
3	0.0
4	0.0

a) 10%試験場興津配合の均衡培養液の標準濃度を1単位とする。

各濃度の培養液中における遊走子形成数は、培養液濃度が上昇するに従って減少する。とくに、1.5単位以上の濃度において著しく減少し、2.0単位以上の濃度では、遊走子形成を認めなくなった。このような、高濃度の培養液中での遊走子形成減少は、寒天培地よりはく離して得た菌糸についても同様の傾向を示し、培地の影響は認められなかった。なお、 $1/8$ 単位から4.0単位までの培養液のpHは、5.4 - 5.8の範囲にあり、pHの大きな変化はなかった。

ミツバ立枯病菌とホウレンソウ立枯病菌の高濃度培養液中における遊走子形成状態を顕微鏡により観察したところ、球のう形成は認められるが、球のう内に遊走子が分化しなかったり(図版10-3)、遊走子が分化しても外部に放出されず、球のう内で被のうし、発芽していた(図版10-2)。このような、遊走子形成過程における形態異常は、培養液濃度が2.0単位以上の場合認めら

表-32 遊走子形成実験系の養液中に含まれるカルシウム
マグネシウムならびにカリウムの濃度.

養液濃度 (単位) ^{a)}	濃 度 (ppm)		
	カルシウム CaO	マグネシウム MgO	カリウム K ₂ O
蒸留水	10	5	20
1/2	40	18.5	75
2	160	50.0	320

a) 表-31 参照.

表-33 培養液の各濃度とミツバ立枯病菌の
球のう形成と遊走子分化

水耕養液濃度 (単位) ^{c)}	球のう分化 ^{a)}	球のう内遊走子分化 ^{b)}
蒸留水	+	+
1/8	+	+
1/4	+	+
1/2	+	+
1	+	+
1.5	+	±
2	+	-
2.5	-	-
3	-	-

a). +: 球のう分化を認めた, - 認められなかった

b). +: 遊走子の分化を認めた, - 認められなかった.

±: 分化認めたが数えきれなかった.

c). 表-31参照

れ(表-33), 高濃度培養液中における遊走子数の減少とほぼ一致した。

ま と め

供試2菌株の遊走子形成は, いずれも高濃度培養液中において著しく抑制され, 養液

濃度 2.0 単位以上では全く遊走子が形成されなくなった。

供試した培養液（園試興津地方均衡培養液）は、濃度上昇に伴う pH の変動はわずかである（1 単位で pH 5.7, 4 単位において pH 5.4）。遊走形成と pH の関係は、図 4（IV-1-1）に示したように、この範囲内ではほとんど影響を受けない。高濃度の培養液中における遊走子形成抑制は、pH に起因するのではなく培養液濃度が原因と考えられる。

この遊走子形成抑制は、培養液中に界面活性剤を添加した場合のように、遊走子を直接破壊することによるものではなく、球のう形成、および遊走子放出などに影響を与えて起すものと思われ。とくに、2 単位以上の培養液中では、球のう内にか化した遊走子が、内部で被のうした状態となり、そのまま発芽するのが認められることから、高濃度の培養液中において Pythium 属菌遊走子は、分化

と放ちに影響を受けると考えられる。

IV-1-4. 培養液構成塩類の遊走子形成に及ぼす影響

高濃度の培養液中において Pythium 属菌の遊走子形成は、著しく抑制されることが示された。べん毛菌類の遊走子形成は、温度、pH および溶液中のイオンなどにより影響されることが報告⁴³⁾されており、培養液中においても、このような環境的（物理的、化学的を含めて）要因により影響を受けると思われる。前項において、pH に関しては、供試した培養液の濃度範囲では、養液の pH の変動は小さく、遊走子形成について重要性は低いと思われた。

本実験において、養液構成塩類の各濃度溶液中での遊走子形成を調べ、高濃度の培養液中における遊走子形成抑制の原因について考察した。

材料と方法

前項IV-1-3と同様の方法により、各塩類溶液中における遊走子形成を調べた。供試塩類は、培養液の主要成分である硝酸カルシウム、硝酸カリウム、硫酸マグネシウム、およびリン酸第一アンモニウムである。濃度は、それぞれの塩が培養液1単位から4単位の濃度のものに含まれている濃度とした。遊走子形成抑制は、菌そうを溶液中に浸漬後、遊走子の形成止まるまでの時間を測定し調べた。なお、電気伝導度と遊走子形成の関係は、塩化カリウム水溶液を用いて、同様の方法により調べた。

実験結果

供試塩類の各濃度の溶液中における、ミツバ立枯病菌の遊走子形成に要する時間、および、蒸留水中での遊走子形成数に対する相対

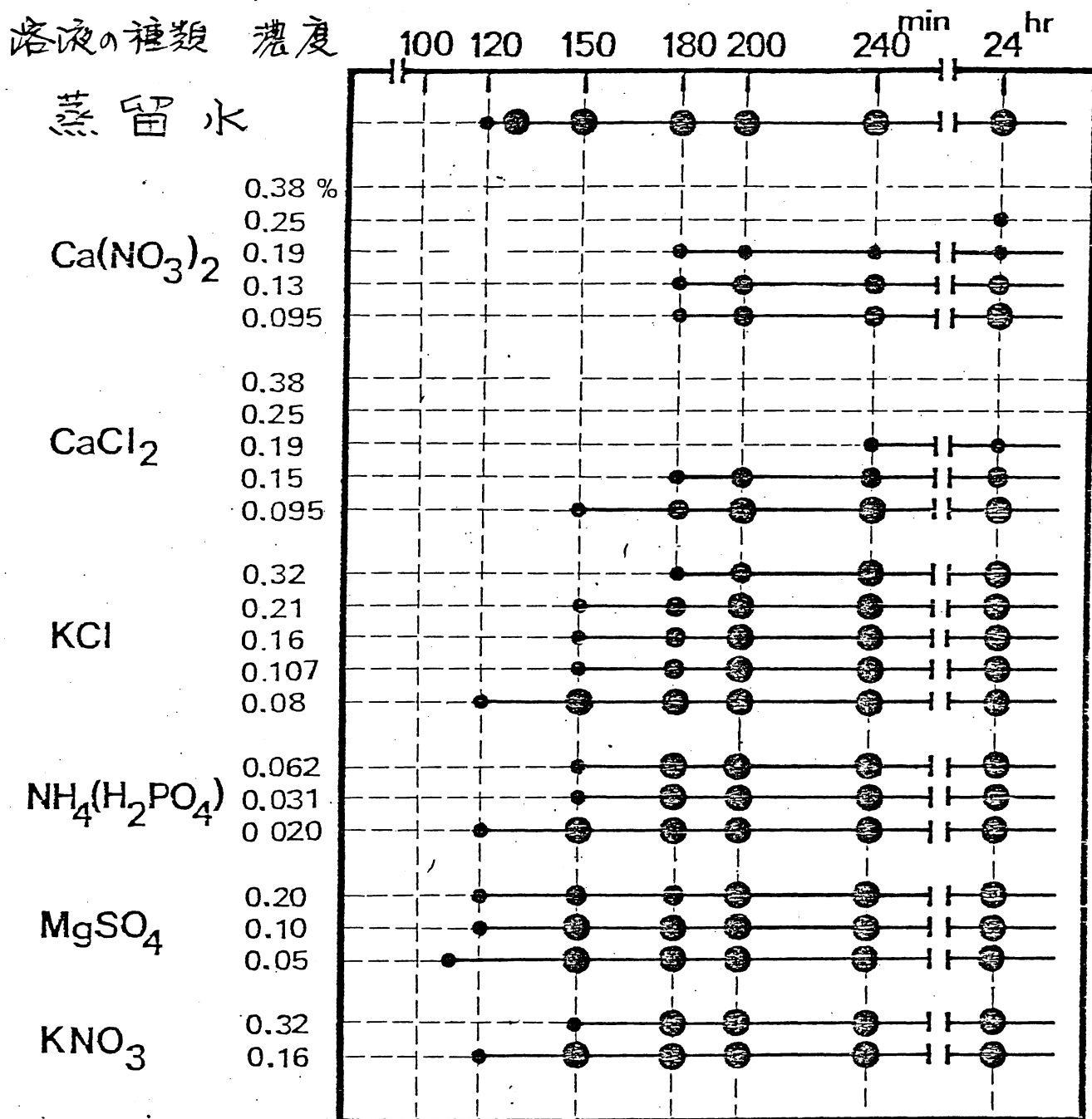
的な関係は、図-6 に示した。

培養液の主要構成成分である4種類の塩のうち、硝酸カルシウムの水溶液が最も遊走子形成に対して抑制的であった。すなわち、2単位の濃度の培養液に含まれる量と同一濃度（0.19%）において、遊走子形成数は減少し、2.5単位相当の濃度（0.25%）では、24時間を要し、0.38%の濃度では24時間以上経過しても全く遊走子形成を認めなかった。硝酸カリウム、硫酸マグネシウムは、硝酸カルシウムに比較して0.2% - 0.32%の濃度においても遊走子形成を抑制することはなかった。

塩類溶液による遊走子形成の抑制は、硝酸カルシウムのほか、塩化カルシウムによっても認められた。

遊走子形成と溶液の電気伝導度の関係について、塩化カリウムを用いて調べた。塩化カリウムは、硝酸カルシウムに比較して、むしろ高い電気伝導度を示すが（図-7）、

溶液に浸漬後、遊走子形成までに要した時間と遊走子形成量



四-6. 培養液構成塩類の各溶液中における *Pythium imperfectum* の遊走子形成

● — : 遊走子の形成されたことを示す。
丸印の大きさは、遊走子の相対的 (Cont. に対する) 形成量 (形成数) を示す。

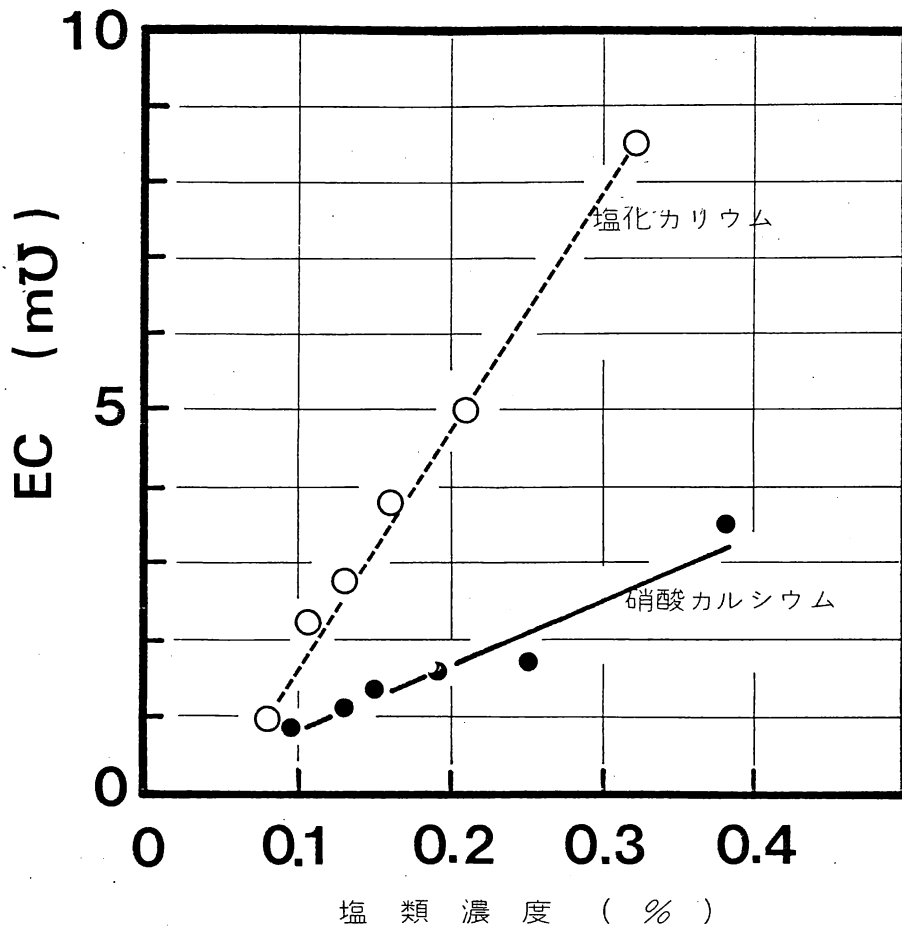


図-7. 硝酸カルシウム, 塩化カリウムの水溶液と電気伝導度の関係

遊走子形成に対して強い抑制効果は示さなかつた。

次に、供試塩類の溶液中における遊走子形成の形態について調べた。その結果、硝酸カルシウム、塩化カルシウムの0.25%以上の溶液で、高濃度の培養液中同様、遊走子のか化、放出の抑制が観察された。硝酸カリウ

ムの 0.32 % 溶液中においては、遊走した遊走子が、短時間で (15-30 分以内) 被のうすののが認められた。

ま と め

高濃度の培養液中で認められる遊走子形成の抑制は、水耕養液構成塩である硝酸カルシウムの水溶液中において同様に観察され、溶液中に存在するイオンの種類と濃度との密接な関連が考えられる。硝酸カルシウム、塩化カルシウムの水溶液中で観察される遊走子形成阻害の状態が、高濃度の培養液中で認められる形態 (図版 10-2, 3) と同一であることから、培養液中に含まれる Ca^{2+} イオンが、遊走子形成抑制に関与しているものと思われる。

Phytophthora fragariae の遊走子形成において、森田, Mass は、 Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- などのイオンが、 $10^{-3} - 10^{-4}$ Mol 存在することに

より促進的効果のあることを報告していきが、ミツバ立枯病菌では、 Mg^{2+} , NH_4^+ , K^+ に促進的作用は認められなかった。むしろ、 Ca^{2+} イオンに関しては、阻害的な作用が認められた。これは、森田⁹³⁾, Mass⁸⁰⁾ の実験に比較して本実験では、塩濃度が $10^{-2} - 10^{-3}$ Mol とやや高いことにもよると思われすが、Mass の報告と同じ 10^{-3} Mol の溶液中でも遊走子形成が増加することはなかった。

IV-1-5. 培養液中における遊走子密度と立枯病の発生

Pythium 菌類の病害発生において、遊走子の集積 (aggregation) が必要であることが、Aphanomyces cochlioides¹¹¹⁾ や、Pythium aphanidermatum⁵⁸⁾ で報告されている。遊走子は、土壌中における生存期間は短い⁷⁹⁾ が、土壌溶液を介して土壌中を拡散する器官として重要性があり、植物の根に対する集積作用

から低密度で分散していても感染力を高める効果がある。

発病に必要な遊走子数について、Aphanomyces euteiches で 39-985 コ¹¹⁾ (バーミキュライト)、282-2,400 コ (自然土壌) といわれており、P. aphanidermatum では、250-281 コ⁸⁸⁾ の遊走子が植物1個体当り必要だといわれている。しかし、Spencer¹²⁰⁾ らは、P. aphanidermatum では1コ⁸⁸⁾ の遊走子から発病が起こると報告している。

水耕栽培は、遊走子形成するべん毛菌類にとって、きわめて理想的な環境状況である。しかし、水耕養液中においても、上記報告などから、ある一定の遊走子密度が感染発病に必要と思われる。そこで、培養液の濃度との関連において、培養液中の遊走子密度と発病との関係を調べた。

材料と方法

供試菌 ; IV-1-2 と同様

接種試験 ; ホウレンソウ, ミワバへの接種
 発病試験は, 直径 3 cm, 深さ 8 cm の管ピン
 を用いて行った。管ピン中に, 50 ml の水
 耕養液を入れ, 遊走子を所定の濃度となるよ
 うに接種したのち, ウレタンマットを支持体
 としてホウレンソウ, ミワバの子苗を管ピン
 当り 7-8 本移植した。培養は, ホウレンソ
 ウ 28°C, ミワバ 33°C で行い, 立枯病率を
 調べた。なお, 立枯病率は, 各区々反覆し,
 算出した。

培養液濃度は, 園試興津均衡培養液の 1
 単位, 2 単位, 3 単位の 3 濃度区とし, 蒸留
 水を対照とした。遊走子は, 2.4×10^3 個/ml
 - 2.4 個/ml の濃度範囲で接種した。

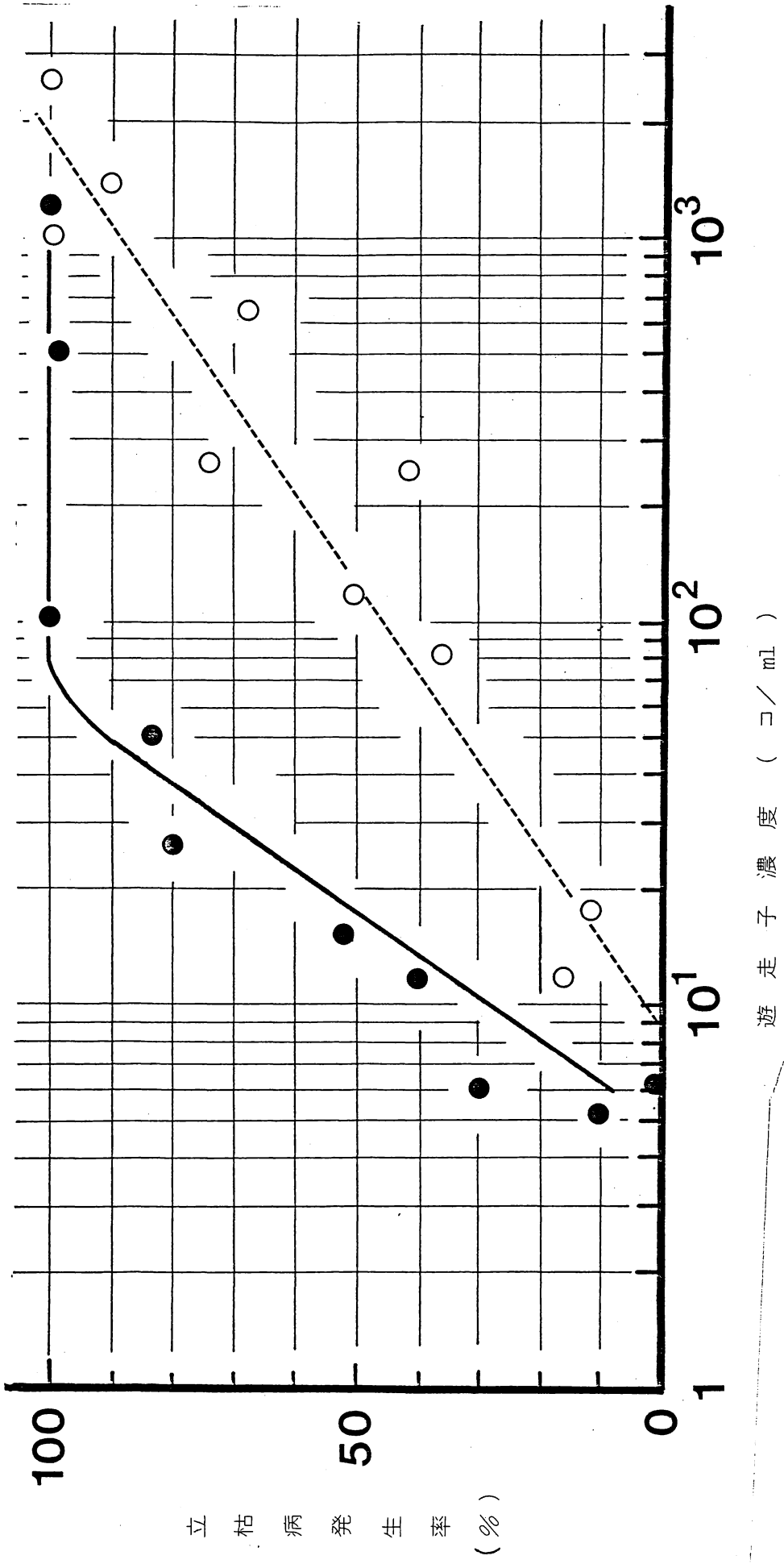
実験結果

蒸留水中における遊走子濃度と立枯病 ; 遊
 走子 (P. butleri) を接種した蒸留水中にホウ
 レンソウ子苗を移植し, 遊走子濃度と立枯病

発生率について調査し、四-8の結果を得た。28°Cにおける接種3日後の発病では、50%の発病を得るのに、 $103^2/ml$ の遊走子濃度を必要としたが、接種6日後の調査では、 $18^2/ml$ の遊走子濃度で50%の発病率を得ることができた。

培養液中における遊走子接種濃度と発病；遊走子濃度区間の培養液を用いて、異なる遊走子濃度による立枯病の発生状況を調べ、四-9の結果を得た。P. imperfectum を接種した水耕養液中において、培養液濃度の上昇によりミツバ立枯病の発生が抑制されるのが観察された。しかし、遊走子濃度の上昇により、発病率は増加した。

ホウレンソウ立枯病菌では、 $1.2 \times 10^1^2/ml$ $1.2 \times 10^2^2/ml$ の遊走子濃度で28°C 3日後100%の立枯率となるが、培養液濃度が2単位となるとやや減少し、3単位となると全く立枯病の発生を認めなかった(四版10-1)。



四-8. ホウレンソウ立枯病発生率と遊走子濃度

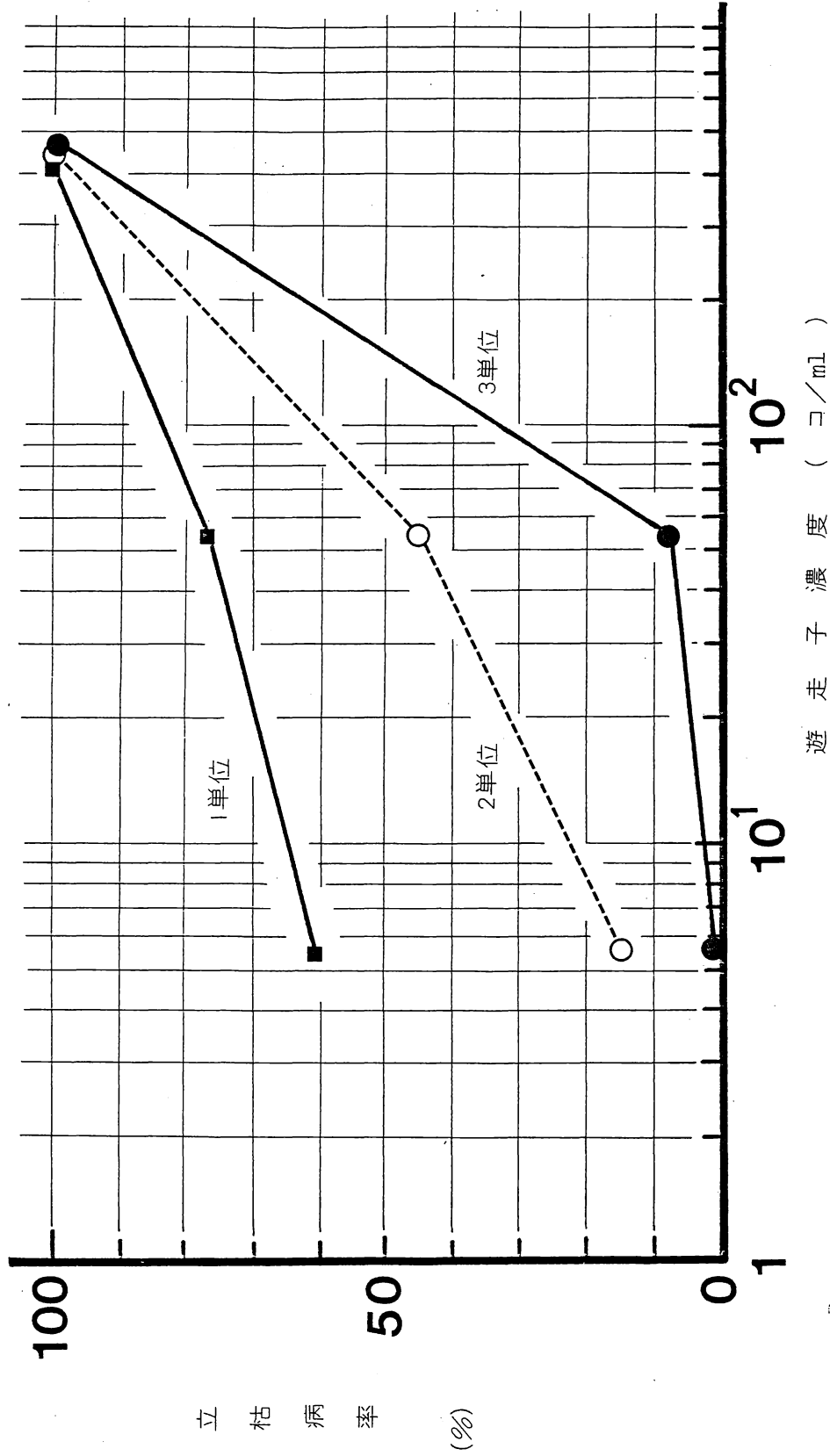


図-9. 各培養液濃度におけるミツバニハニ枯病発生率と遊走子濃度

しかし、 1.2×10^3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の遊走子濃度では、
示耕養液濃度に関係なく高い発病率が認めら
れた。

また、培養液の濃度と遊走子の運動性につ
いて調べ、表-34、表-35の結果を得
た。培養液中の遊走子の運動期間は、養液

表-34 ホウレンソウ立枯病菌遊走子の各温度条件
下における被のう状態と発芽

培養温度 (c)	遊走子の被のう	発芽
5	-	-
17	-	-
23	-	-
28	-	-
35	+	+
40	+++	++

Schmitthenner 培地で培養した菌そうじり得た遊走子
を各温度条件下で培養し、時間後の遊走子の被のう状態
を調べた。- ; 遊走子は被のうしていない。+ ; 10-50%
の遊走子が被のうしている。++ ; 10-90%の遊走子が
被のうしている。+++ ; ほとんど全ての遊走子が被のうしている。
被のうした遊走子の発芽状態。- ; 全く発芽を認め
ない、+ ; 10-50%の発芽率、++ ; 50-90%
の発芽率、+++ ; ほとんど全て発芽している。

表-35 硝酸カリウム・塩化カリウム溶液中における
Pythium imperfectum 遊走子の被のう状態*

供試塩類	濃度 (Mol)		
	0.05	0.01	0.001
硝酸カリウム	被のう	+**	+
塩化カリウム	被のう	+	+

* : 各塩類のそれぞれ溶液中に遊走子を浸漬後
3時間(23°C)後の状態。

** : +は運動していることを示す。

の温度と、濃度が高くなるほど短くなり、3
単位の培養液中では、1時間以内にほとん
ど全ての遊走子が被のうした状態となってい
た。

まとめ

ホウレンソウ立枯病菌 (*P. butleri*) とミ
ツバ立枯病菌 (*P. imperfectum*) を用いて、蒸留

水中における遊走子濃度と発病について調べた。

接種3日後に50%の発病率を得るには、 10^3 個/ml、接種6日後では 10^2 個/mlとそれぞれ低濃度で十分であった。このように、遊走子濃度条件下では、ホウレンソウ1個体を枯死させるために必要とする遊走子数は、遊走子発芽率93%の場合、1植物当たり $630 = (10^3 \text{ 個/ml}) \sim 104.6 = (10^2 \text{ 個/ml})$ とそれぞれ少い。

Spencer¹²⁰⁾らは、理想的な条件下では100の遊走子からでも感染発病が起ると報告しているが、ホウレンソウ立枯病菌についても水耕養液中での理想条件下においては、ほぼそれに近い低い病原菌密度で発病が起るものと考えられる。

しかし、培養液中への遊走子接種により発病を調べた場合、養液濃度が高くなるに従って発病が抑制された。また、高濃度養液中では、遊走子接種後、植物を移植するまでの

時間経過の長い程発病が抑制された。これは、本菌遊走子が、2-3単位の養液中において短時間で被のう化するが、発芽能力を保持していることから考えて、発病減少は、運動性を失い根に対する集積能力を欠いたことによるものと考えられる。

以上のことから、高濃度の培養液中における、Pythium 属菌の立枯病発生減少は、遊走子形成数の減少と遊走子の短時間内の被のう化によるものと結論し得る。すなわち、遊走子形成が減少したにもかかわらず、さらに被のう化するため、植物体の根に対する集積が不十分となり、大発生に至らぬものと考えられる。

IV-1-6. 薬剤による Pythium 属菌の防除、 とくに Ridomil の効果.

Pythium 属菌による立枯病防除には、パンソイル[®] (5-エトキシ-3-トリクロルメチル

ー1, 2, 4-チアジアゾール)や、タチガレン[⊗](3-ヒドロキシ-5-メチルイソキサゾール)が防除薬剤として使用されることが多い。これらの薬剤は、一時的な防除効果には優れるが、病害発生を抑制する点で不十分である。

最近、卵菌目に対して効果的な浸透性殺菌剤がいくつか報告されている。^{19, 27)} 本項において、浸透性殺菌剤 Ridomil と数種既存薬剤のミツバ立枯病菌とホウレンソウ立枯病菌による病害防除効果について検討した。

材料と方法

供試薬剤 ; Pythium 属菌の病害防除に用いられているパンソイルとタチガレンを供試し、その比較薬剤として、ベンレート(水和剤)ダコニール(水和剤)、オーソサイド(水和剤)を用いた。また最近、べト病、疫病に優れた効果のあることが示された浸透性殺菌剤

Ridomil : (DL-メチル-N-[2,6-ジメチル-フェニル]-N-[2-メトキシアセチル]アラニネート (図-10) を比較に用いた。

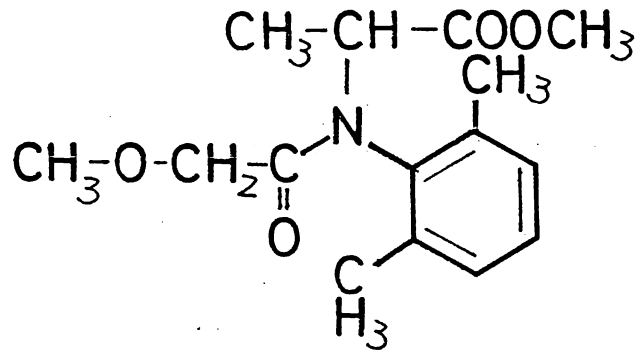


図-10. Ridomil の構造式

寒天培地における供試薬剤の生育抑制効果 ; 供試薬剤の病原菌に対する効果は, CMA (Difco 製) を用いて行い, 培地における病原菌菌糸生育を調べ判定した。CMA 培地中に供試薬剤を所定の濃度となるように混合し, 直径 9 cm のペトリ皿中に分注, その培地地上に P. butleri , P. imperfectum を接種した。培養は, 30 °C 48 時間行い, 菌糸伸長を測定した。

培養液中における薬剤混入による立枯病防

除効果について ; 培養液中に薬剤を所定の濃度と_らすよう添加し, 病害発生防除と, 薬害の程度を調べた。水耕栽培は, 図-5 に示したモデル水耕装置と, ガラス管ビンを用いて行った。培養液中に各薬剤を所定の濃度と_らすよう添加し, P. imperfectum の遊走子を 10^3 コ/ml の濃度と_らすよう接種, 高温条件 30°C , 低温条件 18°C の2区で病害発生と薬害について調査した。

薬剤による種子浸漬処理と病害防除効果 ; 浸透性殺菌剤の使用効果については, 催芽ホウレンソウ種子を用いて調べた。

催芽したホウレンソウ種子を 2000 ppm と 10,000 ppm の Ridomil 溶液中 (製剤濃度) にホウレンソウ催芽種子を 1 時間, 3 時間, 6 時間浸漬し, 5 分間流水中で洗浄後, P. butleri 卵胞子を 2.3×10^2 コ/g 乾土 と_らすように接種した土壌 (殺菌土壌) に播種した。対照としてオーソサイド (キャフタン水和剤) の

2000 ppm (製剤濃度) 溶液のものを用了。
立枯病の発生は、ガウス温室(最高気温 33℃, 最低気温 21℃) 中で10 日後に調査した。

なお、Ridomil の効果は、ホウレンソウ以外にキヌウリの種子についても同様に行い、バーミキエライト上に播種し、P. butleri 遊走子を接種し立枯病の発生を調査した。

実験結果

各供試薬剤の寒天培地における菌糸伸長抑制効果; CMA 培地中に供試薬剤をそれぞれ 5-200 ppm の濃度となるように添加し、供試病原菌の生育を調べたところ表-36, 37 の結果を得た。ベンレートは、Pythium 属菌之種に対してほとんど生育抑制効果を示さなかったが、それ以外の供試薬剤は抑制効果を示した。しかし、タチガレンは、生育抑制効果を示すためには 50-100 ppm 以上の濃度を必要とした。供試薬剤のうち、最も効果の

表-36 寒天培地におけるミツバ立枯病菌の各種薬剤による生育阻害。

薬 剤	培地中への薬剤添加濃度 (ppm)					
	0	10	20	50	100	200
ベンレート	40.3	40.3	37.7	33.0	15.0	8.7
ダコニール	40.3	14.0	3.5	0.0	0.0	0.0
カルバミゾール	40.3	20.3	3.7	2.5	0.0	0.0
パンソイル	40.3	17.7	5.6	0.0	0.0	0.0

Difco Czapek Dox Agar を用いた。
28℃, 24時間後の菌そう直径 (mm)。

表-37 ホウレンソウ立枯病菌に対するパンソイルとタネガレンの効果

薬 剤	薬剤の各濃度溶液中における菌糸の生育					
	1 ppm	3 ppm	10 ppm	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm
タネガレン	+++	+++	+++	+++	++	-
パンソイル	+++	++	±	-	-	-

- ; 菌糸の生育を認めない。
- + ; 菌糸の生育を認める。
- ++ ; 菌糸の生育は良好。
- +++ ; 薬剤無添加の場合と同程度の生育。
- ± ; 5日間の培養で生育を認めた。

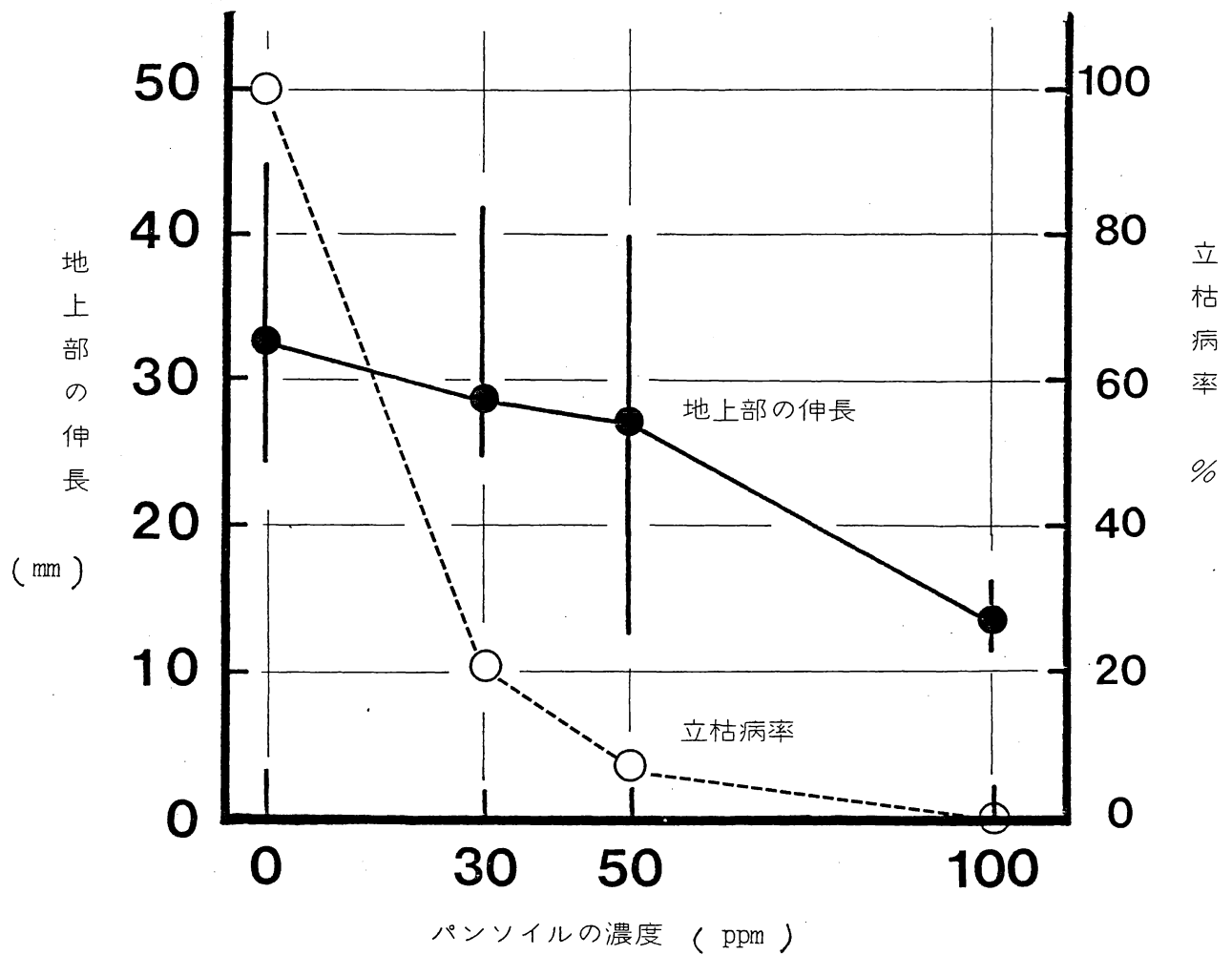
高かったのは、パンソイルと Ridomil であった。
なお、Ridomil は Pythium 属菌以外 Phytophthora 属菌
に対しても抑制効果を示したが、Fusarium 属菌
に対してはほとんど効果を示さなかった（表
-38）。

図-38 各病原菌に対する供試薬剤の菌糸伸長抑制効果*

供試薬剤	濃度 (PPM)	病原菌の培地の上での生育		
		<u>Pythium butleri</u>	<u>Phytophthora capsici</u>	<u>Fusarium oxysporum</u>
Ridomil	20	-	-	+++
	50	-	-	+++
パンソイル	20	-	-	+++
	50	-	-	++
バンレート	20	+++	+++	-
	100	+++	++	-

- *. - ; 菌糸の生育を認めない。
+ ; 菌糸の生育を認める。
++ ; 菌糸の生育は良好。
+++ ; 薬剤未添加と同様の生育を認める。

培養液中における薬剤の効果と障害 ; ホ
ウレンソウ立枯病菌とミツバ立枯病菌を用い
て、培養液中への薬剤の添加による病害防
除効果について調べ表-39と、図-11の
結果を得た。実験は、ミツバについてはモテ



図一〇 . パンソイルの添加濃度とミツバ立枯病防除効果と生育障害.

表-39 ホウレンソウ立枯病菌による病害防除に対する薬剤効果

薬剤処理	遊走子接種濃度の違いによる発病度*	
	5.8×10^2 ｺ/ml	5.8×10^3 / ml
パンソイル	0.4	0.0
タナガレン	2.8	1.7
無処理	3.8	2.4

$$*: \text{発病度} = \frac{\sum (0 \cdot X_1 + 1 \cdot X_2 + 2 \cdot X_3 + 3 \cdot X_4 + 4 \cdot X_5)}{X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5}$$

ル水耕装置で、ホウレンソウについてはガラス管ピンを用いて調べたが、同様の結果を得た。寒天培地上で最も効果の高い結果を得たパンソイルは、培養液中では30 ppmの濃度を必要とした。しかし、ミワバでは養液中にパンソイルを30 ppm添加すると30℃の液温下では根に褐変が認められた(図版11)。

また、ホウレンソウでは添加濃度が高くなると従って生育が抑制され、とくに根において著しい生育障害が認められた(図版12)。

浸透性殺菌剤による種子浸漬処理の効果 ;
 催芽ホウレンソウ種子を用いて, Ridomil と
 オーソサイドの種子浸漬処理効果を調べるとこ
 ろ, 2,000 ppm の Ridomil 1時間浸漬で立枯
 病の発生をほとんど抑制することができた。
 一方, オーソサイドでは同一濃度でほとんど
 効果を認めなかった。(表-39, 図版13)。
 さらに, この Ridomil 処理を行った種子 (2,000
 ppm 1時間浸漬) では, 播種2週間後の子

表-39 浸透移行型殺菌剤による種子浸漬処理と
 ホウレンソウ立枯病の防除。

処 理	発芽個体数	立枯個体数	立枯病率(%)
Ridomil 2000ppm 1時間浸漬	52	0	0.0
オーソサイド 2000ppm 1時間浸漬	5	43	89.6
無処理	0	42	100.0
無接種	58	0	0.0

苗においても立枯病の発生が認められなかった。

ホウレンソウに対する Ridomil の薬害は、2,000 ppm 3時間浸漬によってもほとんど認められなかったが、6時間浸漬ではやや生育抑制が認められた。さらに、10,000 ppm では、3-6時間浸漬で著しい生育障害を示した(図版・14)。これは、本薬剤の過剰濃度と長時間浸漬処理が、植物に対し薬害の生じることを示している。

Ridomil の効果は、キウリについても認められ、Pythium 属菌によるキウリ立枯病をほぼ完全に抑制した。しかし、処理濃度と時間は、障害と効果の両方に関係しており、1,000-5,000 ppm, 1時間浸漬が最も良好な結果を得た(図版-14)。

ま と め

養液栽培における養液伝染性の病害(主と

して " 土壌伝染性病害 " が多い) に対しては、従来しき、栽培槽の消毒、および栽培期間中に養液中への病原菌の浸入を防ぐなどの対策がとられている。このような防除法は、いわゆる消極的な防除法であり、栽培期間中に病害が発生した場合の防除法について有効な方法がない。本実験において、立枯病の発生を防ぐため養液中へのパンソールの添加が有効であることが示された。同時に、薬剤の使用は、植物に生育障害をもたらすことも示した。この培養液中への投入された薬剤による薬害は、高温ほど著しく、高温環境下で発生している両病害の防除にとって、使用に注意を要する。シカン、ミワバについては、多少根が侵され生育が豊くなくても、全く枯死することはなく収穫は可能である。ただ、生鮮野菜であるミワバに、しかも養液栽培で農薬を使用する点に関しては慎重な考慮が必要であろう。

最近、卵菌目に効果的な浸透移行型の殺菌

劑がいくつか発表¹⁹⁾され、バト病、疫病に卓効のあふことが知られている。浸透型の殺菌劑は、地上部に散布しても、地下部(根)に移行し菌の侵入などを防ぐ効果があり、本菌のように、地上部より侵入する病原菌に対し、きめめて有効である。また、従来使用されている、パンソイル、タチガレンなどの接触型の殺菌劑は、病原菌に対して散布されるため、土壤、培養液中への投与には多量の薬劑を必要とする。この点、浸透移行型の殺菌劑は、植物体中に取り込まれているため、菌糸、遊走子および卵胞子などの感染源の違いによる薬劑感受性に影響されることなく効果があり、環境に散布される薬劑は少量である。

養液栽培では、養液中に薬劑を混入することにより薬害を生じる。しかし、このような、浸透性殺菌劑による種子浸漬処理は、条件さえ選択すればほとんど薬害はなく、子苗期の感染を防ぐことができ、苗木立枯病の防除ができる。Pythium 属菌による立枯病の被害は、本

論文の III-1-2 において示したように播種から、本葉 1-2 葉期頃に集中している。

Ridomil は、この時期までの病害発生を抑制し、実験的には、養液栽培において、Pythium 属菌、Phytophthora 属菌の病害防除に有効な手段となり得る。

IV-1-7. 考 察

Pythium 属菌の病害は、一般に水溶性であり、遊走子の役割が極めて重要である。本項では、Pythium imperfectum と後述する P. butleri を用いて、養液中での遊走子の挙動について検討した。

両病原菌による病害は、養液濃度上昇に伴って抑制される。通常の培養液濃度（ $1/4 \sim 1/2$ 単位）では、両病菌による病害が急速に発生、まん延するものが認められる。しかし、養液濃度が 1 単位以上と下ると被害は減少し、2 単位以上では、ほとんど立枯病の発生を認めない。すなわち、養液濃度の上昇が、病害

発生に対し、抑制効果のあふことが示された。

一方、高濃度の培養液中においては、(1) 遊走子形成抑制、および (2) 遊走子の被のう化促進が行なわれる。とくに、両病原菌の遊走子形成は、カルシウムイオンの存在により抑制され、Massらによつてすでに報告されている Phytophthora 属菌の遊走子形成促進とは異なつた結果となつた。

遊走子の被のう化もまた塩類度、カリウムイオンにより促進され、高濃度の培養液中では、短時間で被のう化した。

高濃度養液中におけるこの遊走子に対する2つの作用は、Pythium 属菌2種類に対して共通に認められており、病害発生に対し阻害的に働いていふと考えられる。

本属菌による病害は、遊走子の走化性による根部への集積が重要である。すなわち、遊走子形成の抑制と速やかな被のう化は、水中における病原菌の密度を減少させるとともに、根部への遊走子集積を抑制することから、発

病において必要な遊走子数を減少するものと考えられる。

遊走子の被のう化促進が発病抑制上重要であることは、高濃度養液中で遊走子接種濃度が高い場合においても発病が低下することからも裏付けされる。

養液栽培における病害防除に対して、薬剤以外に種々の対策が考えられる。薬剤は、養液中に添加することにより、Pythium 属菌の生育、遊走子形成を抑制するが、効果のあまり濃度条件下においては、作物に対しても障害を与えらる。養液中への薬剤投入は、この理由から、効果のあらわれうる限界の濃度で使用されており、これが効果の顕著でない原因となっている。また、疫病の防除では、界面活性剤、紫外線が使用されているが、前者は、発病を誘起するため栽培上不適当で、後者は、病原菌が照射を受けなければ死滅しないため効果が少ない。

これに比較し、培養液濃度を上昇させる方法は、病害発生を完全に防ぎ去るまでには

しても、遊走子を介しての二次感染を抑制し被害を最少限にとどめる可能性がある。また、農薬を使用することなく病原菌の発生、増殖を抑制できる点、理想的な防除法といえる。

IV-2. Pythium 属菌卵胞子発芽と土壤中における生存

Pythium 属菌の卵胞子は、土壤中における耐久性器官として存在し、^{2, 10)} その生存様式と、発芽形態は、本属菌による病害の発生および、土壤中における生存様式を解明する上において至つて重要である。

Pythium 属菌の遊走子発芽と、その行動に関する報告は多数知られているが、^{6, 121, 123)} 卵胞子に関する研究は、⁶⁾ P. aphanidermatum, P. ultimum および P. myliotiolum ⁶⁾ などいくつか知られるのみである。本邦においては、ほとんど知られていない。そこで本菌 (P. butleri) 卵胞子を用いて、その発芽条件と、発芽形態について調べ、一次感染源としての土壤中での行動について考察した。

IV-2-1. ホウレンソウ組織中と培地上における Pythium butleri の卵胞子形成

Pythium 属菌の卵胞子は、土壤中に埋没された植物遺体中¹⁰⁷⁾に、または、遊離した状態¹⁴¹⁾で存在することが知られていゝが、これは、植物組織中に形成された卵胞子が、土壤中に埋没された植物遺体が分解された結果によつてのものであろうということが知られていゝ^{7, 107)}。

ホウレンソウ立枯病菌は、ホウレンソウの根、地際部の組織中に多数の卵胞子を形成する。そこで、植物組織中における卵胞子形成を経時的に調べ、その形成部位と、感染後卵胞子が形成までの時間について検討した。

材料と方法

ホウレンソウ組織中における卵胞子形成；

ホウレンソウ(品種日吉丸)子苗の根部に分離菌株 SP-10-1 を遊走子接種したのち、植物体を 28 °C, 20 °C で栽培し、根端、地際部、茎の各部位における卵胞子形成状況を経時的に調べた。

培地上における卵胞子形成と温度 ; SCH 培地を用いて、各温度条件下における培地上の卵胞子形成数について調べた。

供試菌の培養は、直径 9 cm のペトリ皿に上記培地を 10 ml 分注し、あらかじめ前培養した供試菌より直径 4 mm の円盤を取りペトリ皿中央部に接種し、各温度条件下で 2-5 日間培養を行った。

卵胞子形成に対するステロール類の効果は、SCH 培地からコレステロールを除いたものに、供試ステロール (β-シトステロール、ステイグマステロール、エルゴステロール、デヒドロコレステロール、および、7-デヒドロコレステロール) を 10 mg/l の濃度となるよう添加して用いた。

実験結果

ホウレンソウ組織中における卵胞子形成 ;
遊走子接種 (2.6×10^3 コ/ml の遊走子懸濁液

に根部浸漬)したホウレンソウ子苗組織中に形成される卵胞子を経時的に調べた。その結果、28℃では、地際部(茎)の皮層部に、接種48時間後、未熟な卵胞子(造卵器内に原形質が充満している状態、外壁は厚膜化していない)が観察された(図版15-1)。接種72時間後では、組織内に形成された卵胞子に厚膜化したものが認められ、造卵器内に不充満の状態となっており、その数も増加していた(表-40, 図版15-2)。卵胞子は、地際部(茎)以外に根の部分にも観察されるようになった。さらに、接種96時間後では、

表-40 ホウレンソウ立枯病罹病植物組織中における
Pythium butleri の卵胞子形成

組 織	接種 48 時間後		接種 72 時間後	
	20 C	28 C	20 C	28 C
地上部(茎)	0.0	0.0	0.67	9.11
地際部	0.0	0.93	5.60	7.46
地下部(根)	0.0	1.33	7.60	42.25

200倍視野中における卵胞子数, 30 視野の平均値.

地際部以外に 5-10 mm 程度の根の部分に多数の厚膜化した卵胞子を認めしたが、茎上部、葉柄、子葉には卵胞子を認めなかった(表-41)。

表-41 罹病植物組織中における Pythium butleri 厚膜化卵胞子の形成率^{a)}

組 織	接種 48 時間後		接種 72 時間後	
	20 C	28 C	20 C	28 C
地上部(茎)	0.0 %	0.0 %	0.0 %	7.3 %
地際部	0.0	0.0	23.2	42.3
地下部(根)	0.0	15.0	36.8	39.6

a) 形成された卵胞子総数に対する厚膜化卵胞子の割合。

卵胞子の組織内における形成部位は、ほとんど茎、根の皮層部分であったが、罹病が進展し組織が崩れるとあらゆる部分に検出された。

20℃では28℃の場合に比較して、卵胞子形成が48時間程度遅くなるが、形成される部位は28℃の培養条件とほぼ同じ傾向を示した。

培地上における卵胞子形成；各温度条件下における卵胞子形成を調べた。その結果は、図-12のようであった。

表-42 Schmitthenner 培地上における *Pythium butleri* の卵胞子形成と厚膜化卵胞子の経時的变化

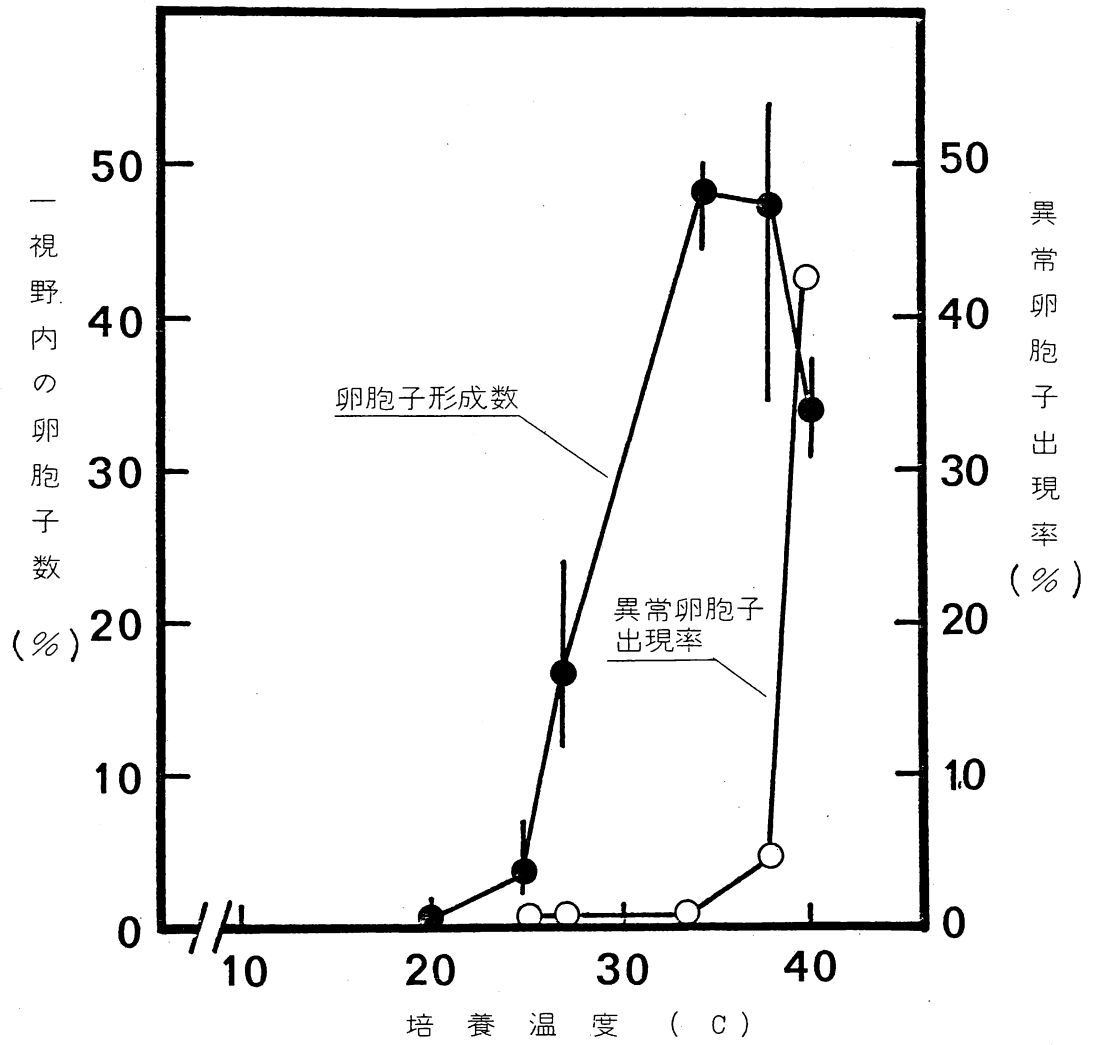
培養日数	200倍視野中における卵胞子数 ^{a)}		
	総数(コ)	厚膜卵胞子数(コ)	厚膜卵胞子の比率(%)
3 日	5.23	0.23	4.4
4 日	9.77	2.54	26.0
6 日	25.30	22.30	88.1
10 日	30.18	28.18	93.4

a) 200倍視野中の卵胞子数, 200視野の平均値。

すなわち、温度上昇に伴い形成数が増加する傾向が認められ、培養温度が $35^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$ のとき最大となった。

つぎに卵胞子の形成を経時的に調査した。

30°C 以上では、48時間の培養により、造精器を付着した未熟な卵胞子(図版17-1)が形成される。さらに、厚膜化した卵胞子が観察されるには、72-96時間の培養期間が



四-12. 各培養温度におけるホウレンソウ立枯病菌の卵胞子形成数と異常形態卵胞子出現率.

必要であった。この卵胞子の厚膜化（卵胞子外壁の厚膜化）は、接種後の培養日数とともに急速に進み、卵胞子全体に対する厚膜化卵胞子の割合は、7日後、ほぼ一定の93.4%となった（表-42）。

卵胞子の形成および厚膜化は、培養温度の上昇に伴い増加したが、35℃以上では、卵胞子の原形質がきわめて少なくなっていたり、また著しく凝集した異常な形態（図版37-1,2）を示すものが多数観察された（図-12）。これら卵胞子の原形質異常は、30℃以下では認められない。

ステロールの種類と卵胞子形成；ステロールの種類と卵胞子形成数について比較した結果、供試した5種類のステロールにも、コレステロール同様の効果があった。しかし、7-デヒドロコレステロールは、培養地に10-50 mg/lの割合で添加しても卵胞子形成に効果を示さなかった（表-43）。また、

表-43 Pythium butleriの卵胞子形成におよぼすステロール類の影響

培地中に添加された ステロールの種類	200倍視野中における卵胞子数		
	総数 (コ)	厚膜卵胞子数 (コ)	厚膜化卵胞子の比率 (%)
エルゴステロール	32.4	28.1	86.7
β-シトステロール	34.8	33.4	96.0
ステイグマステロール	37.4	36.1	96.5
ユレステロール	44.6	43.0	96.4
デヒドロコレステロール	42.7	22.0	51.5
γ-デヒドロコレステロール	29.6	28.5	96.3
無添加	2.0	0.0	0.0

SCH 培地からステロールを除いた培地で形成された卵胞子すべてが異常な形態となり、正常な卵胞子は認められなかった。

ま と め

Mellano (85) らは、キンギョソウ (Antirrhinum majus) を侵害する Pythium ultimum は、接種後 4-6 日間で感染植物組織中に卵胞子を形成すると報告している。筆者が、ホウレンソウ

組織中における本菌卵胞子の形成を経時的に調べたところ、 28°C において接種48時間後にすでに形成さぬていゝのが観察された。

本菌による病害発生は、高温ほど短時間で発生するが、立枯病の発生と、植物組織中における卵胞子形成に高い相関が認められた。

植物組織中における卵胞子形成部位について Mellano ²⁵⁾ らは、根部には少く、茎葉部に多く認められ、とくに茎の皮層部に多く観察されることを報告している。しかし、本菌の場合、最も多く形成さぬていゝのは地際部の茎と、地下部であり、地上部、葉柄には観察されなかつた。

培地上における本菌卵胞子形成は、高温条件下ほど短時間で多数形成さぬ、植物組織内での形成状況と同じ傾向を示した。

しかし、温度が高くなると従って形態的に異常な卵胞子が多数認められるようになり、 35°C を越えると急増した。本菌の生育適温をこの卵胞子形成、すなわち有性世代を含め

て考えるならば、 $30^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$ 付近とするのが適当と思われろ。一般に病原菌の生育適温は菌糸の伸長、または、菌体重から決定されることが多いが、この方法で本菌の生育適温を調べると 38°C である。しかし、この温度条件は、卵胞子形成 および後述する卵胞子発芽にとって好適な条件とはいえない。

培地上における卵胞子形成には、ステロールが必要である。⁽⁵⁾ SCH 培地成分からコレステロールを除いた場合、形成される卵胞子全てが高温で培養した場合同様、原形質凝集などの形態異常を示した。これらの結果は、⁽³⁸⁾

Hendrix が Pythium aphanidermatum で示した結果と一致し、本菌卵胞子形成または、有性世代にステロール類が関与しているものと思われる。

IV-2-2. Pythium butleri 卵胞子の発芽と発芽条件

Pythium 属菌の卵胞子は、有性繁殖器官であ

ると同時に土壤中における耐久性器官として知られ、本属菌による病害発生に関して重要であることが多くの研究者によって指摘されている。^{116, 125, 126)} とくにその発芽は一次感染にとって重要であるが、Pythium 属菌の卵胞子発芽に関する報告は、P. aphanidermatum ¹²⁷⁾、P. ultimum ^{6, 24, 25)} および P. myriotylum ⁶⁾ などの数種の菌で認められるのみで、発芽の全く知られていない種が多数ある。とくに、土壤中における卵胞子発芽および、条件などについては不明な点が多い。

Adams ¹⁾ は、Pythium aphanidermatum の卵胞子を用いて、発芽に及ぼす土壌 pH、温度、培養時間などの影響について報告している。また、

Ayer と Lumsden ⁶⁾ は、P. aphanidermatum、P. myriotylum および P. ultimum の3種の卵胞子発芽について比較を行い、P. ultimum の卵胞子には一定の休眠期間のありことを示している。しかし、P. aphanidermatum では、研究者によりその発芽率が異なり、10-90%と大きな差となっている。⁶⁾ このような差は、培養方法、発芽前の

処理などから生じたものと思われよが、本菌の場合卵胞子が形成されてからの期間、すなわち卵胞子の令 (age) との関係が示唆されよ。そこで、P. butleri を用いて、培養方法と卵胞子の令を発芽率の関係について in vitro の条件下で調べた。

材料と方法

卵胞子形成 ; 分離株 SP-10-1 を用いて、液体、寒天の同一組成の2種類の培地により卵胞子を形成させ比較した。

寒天培地上における卵胞子形成は、SCH 培地上に殺菌したレンズペーパーを敷き、その上に供試菌を接種後、28℃の恒温器内で培養を行った。所定の期間培養後、レンズペーパーを培地よりはく離し、ガラスホモゲナイザー中で磨砕し (1,000 ~ 1,500 rpm. 3分)、磨砕した菌体と、レンズペーパーを3重にしたティッシュペーパーにより3過し

菌体を除去した。そして、さらに30分間4°Cで静置し、卵胞子を沈澱させたあと、上清を静かに倒した。沈澱した卵胞子は、蒸留水に懸濁し洗浄後、実験に供試した(図版 16-1)。

液体培地からの卵胞子調製は、28°C 20日間と、30日間静置培養して得た菌そうより、寒天培地のものと同様の方法で行った。

卵胞子発芽 ; 卵胞子を蒸留水に懸濁後 ($3.23 \times 10^4 \text{ } \mu\text{/ml}$), 各温度条件下で懸滴培養(図-13)を行い発芽率を調べた。発芽

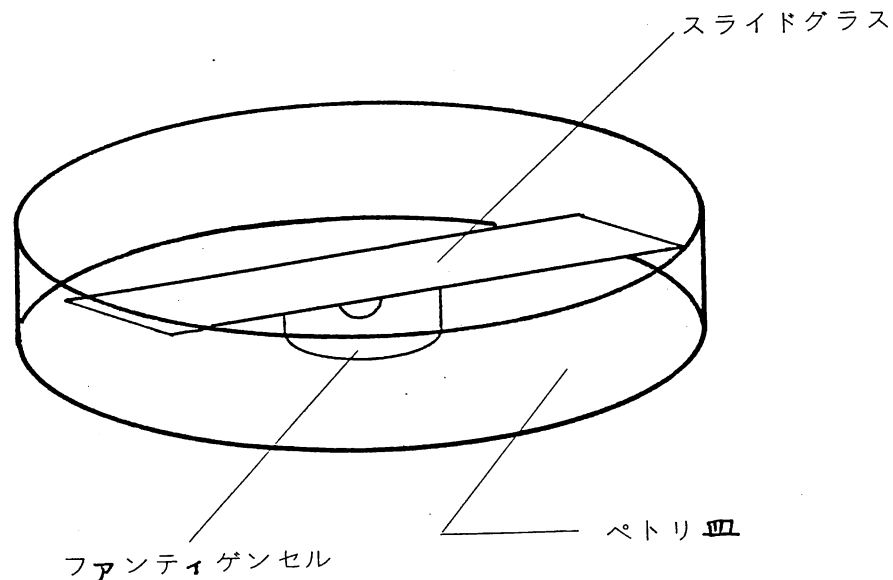


図-13

懸滴培養法

に及ぼす pH の影響は、0.01 Mol. のリン酸カリウム緩衝液と、0.01 Mol. 酢酸緩衝液を用いて調べた。なお、発芽の判定は、発芽管を形成したものの以外に、卵胞子の外壁が不明瞭となり造卵器内に充満した状態となったもの（図版 17-3,4）も発芽状態にあきまのとして行った。

卵胞子発芽におけるアミノ酸と糖の影響；
卵胞子発芽における外部からの栄養供給と発芽率の関係について、数種類の糖、アミノ酸について添加効果を調べた。供試糖として、グルコース、フルクトース、ガラクトース、ラクトース、およびマニトールを用い、それぞれ 0.01 Mol の濃度となるように調製した。アミノ酸は、グリシン、ロイシン、アラニン、セリン、スレオニン、イソロイシン、アスパラギン、チロシン、アルギニン塩酸塩、ヒスチジン、システイン、バリン、フェニールアラニン、およびフロリンを供試し、0.5 mg/l

の溶液とした。

糖とアミノ酸の溶液中に卵胞子を懸濁後、
28℃で3時間培養し、発芽率を調べた。

卵胞子の令と発芽率の関係；培養日数の異なる菌そうより卵胞子を調製し、その発芽率を調べた。

実験結果

液体培地と寒天培地より得た卵胞子の発芽率；同一組成を持つ液体と寒天培地より得られた卵胞子について、蒸留水中での発芽率を調べ、表-44, 45の結果を得た。

表-44 液体培養により得た *Pythium butleri* 卵胞子の発芽率

培養日数	卵胞子発芽率		
	卵胞子総数	発芽卵胞子数	発芽率(%)
6	448	8	1.6
14	310	33	10.6
20	285	37	13.6

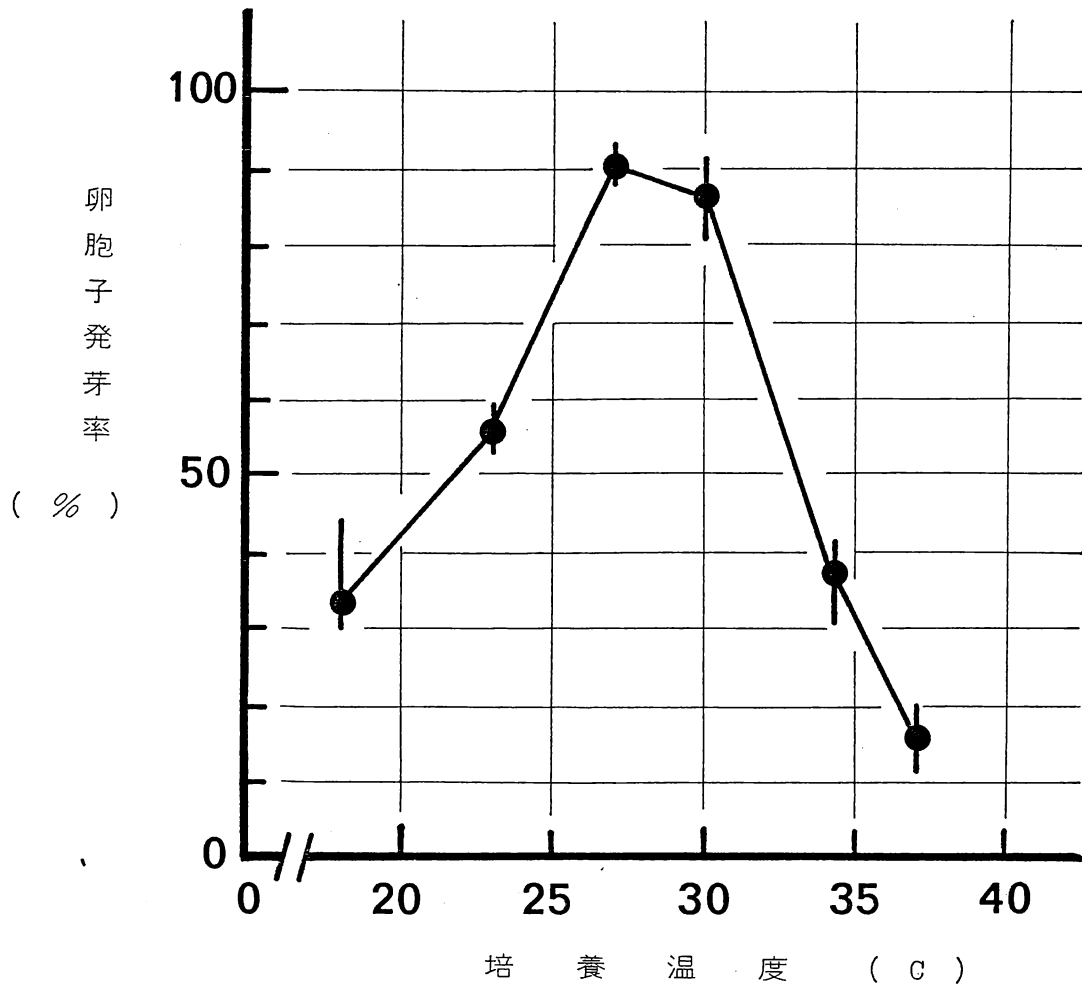
表-45 寒天培地より調製された *Pythium butleri* 卵胞子の発芽率.

培養日数	卵胞子発芽率		
	卵胞子総数	発芽卵胞子数	発芽率(%)
6 日	283	69	24.4
10 日	334	166	49.7
14 日	293	183	62.5

液体培地で、15、20、25 日間培養して得た卵胞子は、発芽率が 2.3 - 8.0 % と極めて低く、培養期間によっても大きな差は認められなかった。しかし、寒天培地から得た卵胞子は、その培養期間の短いものでは発芽率が低い、6 - 10 日間培養して得たものでは、24 - 50% の発芽率を示した。

卵胞子発芽と pH、温度の影響；寒天培地から得た卵胞子を用いて、蒸留水中における発芽率と培養温度の関係を調べ、図-14 の

結果を得た。本菌の卵胞子発芽の最適温度は、 $27 - 30^{\circ}\text{C}$ であり、 30°C 以上の温度では、急速に発芽率が減少し 35°C 以上ではほとんど発芽しなくなる。また、発芽とpHの関係



四一四 . 各温度における *P. butleri* 卵胞子の発芽率

は、図-15. のようになり、pH 6.3 - pH 8.2 の範囲で良好な発芽を示した。

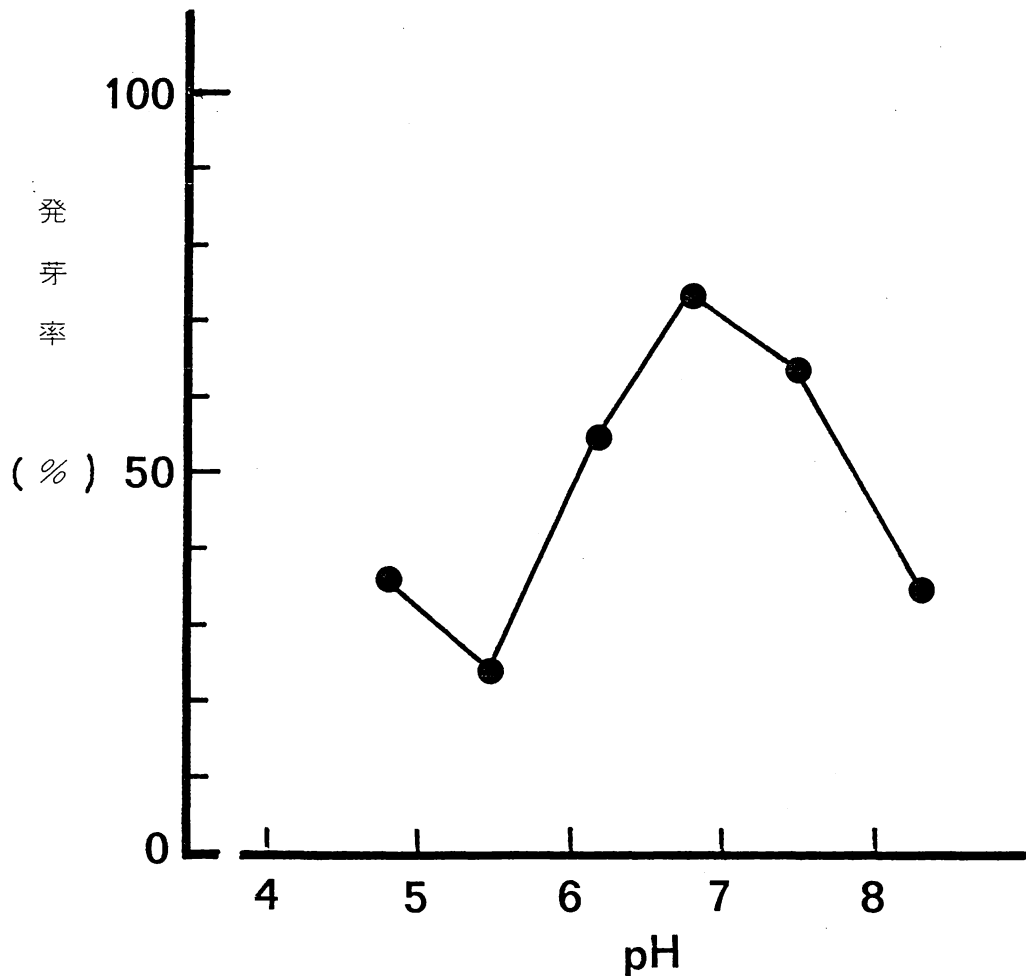


図-15. 各pHにおける P. butleri 卵胞子の発芽率

糖・アミノ酸の発芽に及ぼす影響； 5種類の糖と、14種類のアミノ酸溶液中での本菌卵胞子の発芽率は、表-46, 47, 48に示

表-46 Pythium butleri 卵胞子発芽に於けるアミノ酸の影響 I

アミノ酸	卵胞子発芽率		
	卵胞子総数	発芽卵胞子数	発芽率%
アスパラギン	293	20	6.83
イソロイシン	181	54	29.83
スレオニン	138	39	28.26
セリン	250	121	48.40
アラニン	282	73	25.89
ロイシン	166	41	24.70
グリシン	204	91	44.61
無添加	252	147	58.33

表-47 Pythium butleri 卵胞子発芽に於けるアミノ酸の影響 II

アミノ酸	卵胞子発芽率		
	卵胞子総数	発芽卵胞子数	発芽率(%)
チロシン	234	95	40.6
アルギニン-HCl	261	105	40.2
ヒスチジン	155	39	25.2
シスチン	176	38	21.6
バリン	209	67	32.7
フェニールアラニン	152	72	47.4
プロリン	117	59	50.4
無添加	165	74	44.9

表- 48

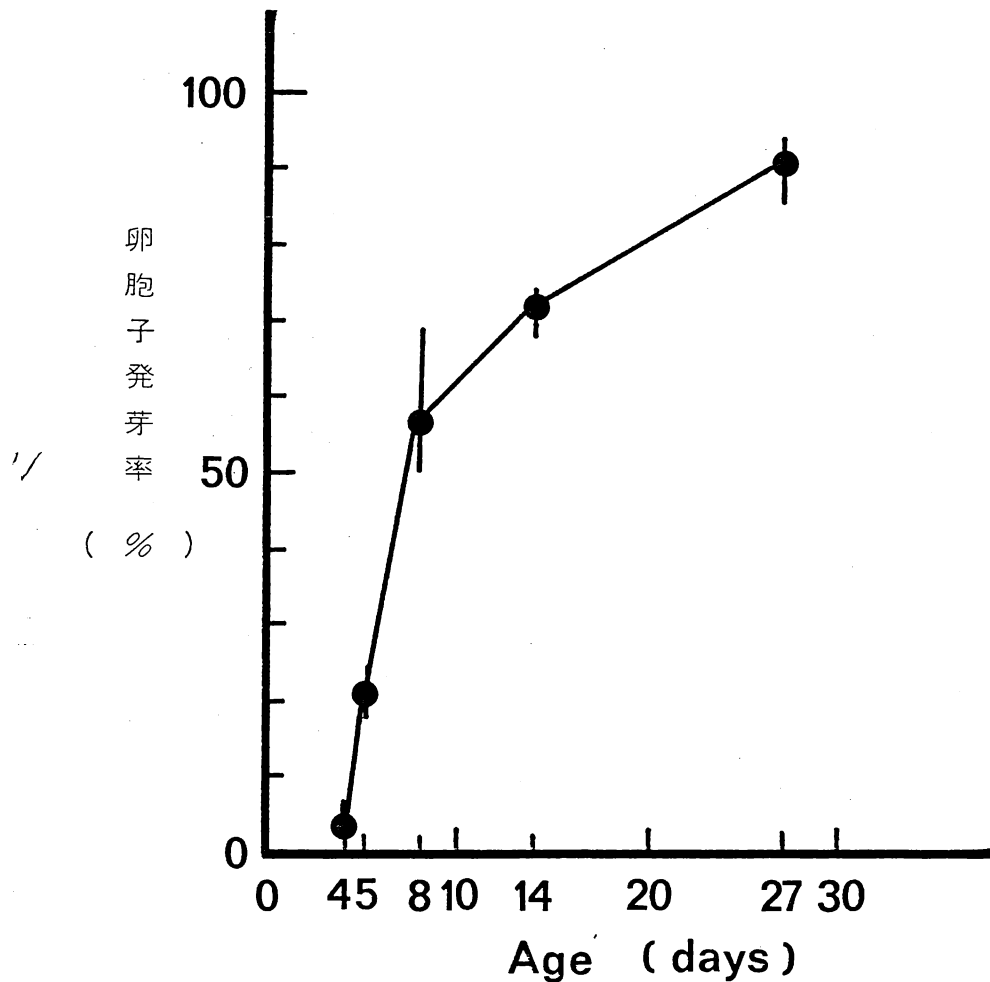
Pythium butleri 卵胞子発芽におよぼす糖の影響

糖	卵胞子発芽率		
	卵胞子総数	発芽卵胞子数	発芽率(%)
グルコース	228	90	39.47
フルクトース	228	98	42.98
ガラクトース	146	73	50.00
ラクトース	228	97	42.54
マニトール	265	126	47.55
無添加	157	90	57.32

た。供試した糖と、アミノ酸中、本菌卵胞子の発芽を促進するものは認められなかった。むしろ、アスパラギンで発芽抑制作用が認められた。

また、卵胞子発芽を発芽管発芽と遊走子発芽について調べたところ、遊走子発芽は、15%前後認められたが、グルコース溶液中では、ほとんど認められなかった。

卵胞子の令と発芽率 ; 培養日数の異なる菌
そうより調製した卵胞子を用いて, 発芽率を
調べ四-16 の結果を得た。接種4日後の培



四-16 . P. butleri 卵胞子の令と発芽率

養菌そうより調製された卵胞子はほとんど発芽しなかったが、5日以後の卵胞子では急速に発芽率が上昇し、27日間培養した菌そうより得たものでは90%近い発芽率を示した。

ま と め

Pythium butleri は、Pythium 属菌のなかでも好高温性の菌群に属し、その生育適温は、 $36^{\circ}\text{C} - 38^{\circ}\text{C}$ の範囲にある。しかし、卵胞子の発芽適温は、 $25^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$ と菌糸に比較すると低温であった。

卵胞子の発芽は、温度以外に pH によっても影響を受け、酸性側で発芽率の低下が認められ、pH 6.5 - pH 8.0 の範囲で高くなることが示され、Adams¹⁾ が、土壌の pH と発芽率を示したものと同様の結果を得た。

培地から調製直後の卵胞子発芽 (immediate germination) について調べたところ、形成してから時間経過に従って発芽率が上昇することが示された。あなわち、P. butleri の卵胞

子発芽率は、令に従って良くなる。そして、27日間経過したものでは、87%の高い発芽率を示した。Ayer⁶⁾は P. aphanidermatum の "immediate germination" が 25-45%であっても、卵胞子をいくつかの方法で前処理を行うと90%近い発芽率が得られることを示した。その原因として次の3点をあげている:

- 1) 卵胞子を採集するまでの培養期間(令),
- 2) 令または、非殺菌土壌抽出液中での後熟,
- 3) 卵胞子の乾燥処理。

本実験において、P. butleri の卵胞子は、27日間の培養日数を経過したもので87%の発芽率を示したことから、卵胞子が形成されてからの時間の経過、すなわち卵胞子の令が発芽に関与するものと思われる。

卵胞子の発芽に対して、カルシウムイオン、光線¹¹⁶⁾、カゼイン²⁸⁾などが促進的に作用することが示されている。また、Stanghellini^{121, 128)}らの報告によれば、糖・アミノ酸が促進的な効果を示すといわれている。このこと、本菌卵胞子の

“ immediate germination ” において供試した糖とアミノ酸は、ほとんど促進的な作用を示さなかった。これは、Stanghellini らの実験において供試された卵胞子は、発芽率が低く、カタムリの消化液で処理しており、本菌を用いた実験方法とは多少異なるためと思われる。Pythium 属菌の遊走子では、グルコース、シュウフローース溶液中において、おみやかに被のうし発芽管を形成するが、卵胞子はこうした外部栄養源に対する要求性が認められなかった。これは、卵胞子が遊走子に比較して大きく、内部に多量の貯蔵物質を持っているためではないかと考えられる。しかし、これらの現象は、蒸留水中での条件下におけるもので、土壌中においても再現されるか否かは不明であり、今後検討を要する。

IV-2-3. Pythium butleri の卵胞子の発芽形態

卵胞子の発芽に関する形態は、感染初期の段階において重要であり、その遊走子形成は、水を介して伝播、および潜在的感染源 "inoculum potential" の増加という点で重要である。しかし、Pythium 属菌卵胞子発芽の形態に関する知見は、Drechsler による P. mamillatum²⁵⁾、P. ultimum²⁴⁾、P. debaryanum²⁴⁾ があり、最近では、Stanghellini が P. aphanidermatum 卵胞子発芽の状態を光学顕微鏡と、電子顕微鏡でとらえ、内胞子内部の変化について報告しているのみである。¹²⁷⁾

これらの報告では、ほとんどが発芽管発芽によるもので、遊走子発芽について報告しているのは、Drechsler の報告のみである。^{24, 25)} 最近、Stanghellini¹²¹⁾ らが、P. aphanidermatum で卵胞子からの遊走子形成について報告しているが、これは、卵胞子が発芽管発芽を行ったのち、膨状体を形成し、遊走子を放出するもので、間接的なものである。

本菌卵胞子の発芽形態について調べたところ、直接遊走子を形成するものが認められた。

そこで、卵胞子の発芽時における形態的变化について調べ、土壌中における発芽様式解明の参考とした。

材料と方法

SCH 培地上で形成された卵胞子を用いて発芽に至る形態的变化、および発芽方法について光学顕微鏡により調べた。なお、卵胞子の培地からの調製法と、発芽のための培養は、IV-2-2と同様の方法である。

また、卵胞子発芽時における卵胞子外壁の変化と卵胞子内部の微細構造の変化は、電子顕微鏡により調べた。卵胞子の固定は、グルタルアルデヒド・オスミウム酸2重固定法と、グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム2重固定法の2組の方法を用いた。

グルタルアルデヒド・オスミウム酸2重固定法は、3%グルタルアルデヒド(0.1 Mol. リン酸カリウム緩衝液, pH 7.2)

により 16 時間 (4°C) 前固定後, 2% オスマウム酸 (0.1 Mol. リン酸・カリウム緩衝液 pH 7.2) により後固定 (4°C, 2 時間) した。

グルタールアルデヒド・過マンガン酸カリウム 2 重固定法は, 3% グルタールアルデヒド (0.1 Mol. リン酸・カリウム緩衝液, pH 7.2) により 16 時間 (4°C) 前固定後, 1.5% 過マンガン酸カリウム溶液により 2 時間 (4°C) 後固定を行った。

試料は, エタノール・プロピレンオキサイドの系により脱水後, エポン 812 中に包埋した。

包埋した試料は, Sorvall MT-1 ミクロトームにより超薄切片とし, 日立 H-200 型電子顕微鏡により観察した。

実験結果

発芽管発芽における卵胞子の形態的变化 ;

卵胞子の発芽管発芽は、卵胞子を蒸留水中に浸漬すると容易に起こり、2-3時間後に発芽管形成が完了する。展型的な卵胞子の発芽管形成状態は、図版 16-2 に示した。発芽管は、造卵器壁の部分で細くなり、その後膨潤して太くなっている（矢印）。発芽管は通常 1 本であるが 2 本形成されることもある（図版 16-3, 4）。卵胞子は、発芽に伴って、休止期の厚膜化した外壁が次第に薄くなるのが特徴である。本菌卵胞子の外壁は、光学顕微鏡により観察すると、2 層になっているのが認められるが、発芽過程では、このうち内側の層（endo-spore wall）が消失する。球形の卵胞子は、やがて造卵器内で卵型（図版 17-4）となり、発芽管が造卵器壁を破って生じる。卵胞子中央部の油滴状の構造（central reserve globule）は、発芽に伴って次第に小さくなり消失していく（図版 17-2, 3, 4, 5）。

卵胞子の遊走子発芽 ; 本菌卵胞子は、発芽

管以外に直接遊走子を形成する。卵胞子からの遊走子形成は、1) 発芽状態となつた卵胞子より溢水管を直接生じ、その先端に球のうを形成するもの(図版18-1)、2) 卵胞子より40-100 μ m程度の発芽管を形成後、その先端に球のうまたは、溢水管を生じするもの(図版18-2,3)、3) 卵胞子より生じた発芽管の一部に膨状体(遊走子のう)を形成後、溢水管を生じうる種類の型が認められた(図版19-5,6)。これらの遊走子形成法のうち最も程度の高いものは2)によるものであった。

卵胞子の遊走子発芽は、先端の開口した溢水管(evacuation tube)を持つ卵胞子(図版19-3)を調べることにより、その発芽全体に及ぶ割合を求めることができるとのことである。よにより、卵胞子の遊走子発芽と温度の関係を探ったところ、25-27 $^{\circ}$ Cで最大で、発芽全体の12%に達した。しかし、遊走子発芽の割合は、蒸留水中之での浸漬時間が長い程

上昇し、5時間後では25% (27°C) にも達した。卵胞子の遊走子発芽では、培養時間が長くなると、先端の開口した溢水管が長くなる傾向が認められた。

電子顕微鏡による発芽卵胞子の形態的变化

； 卵菌目の卵胞子形成過程や、発芽時の電子顕微鏡像は、いくつか報告されているが、固定液、包埋剤の浸透不良から明瞭な像を得たものは少ない。本実験においても休止期の卵胞子では、内部構造の固定が不十分であった（図版20-1, 2）。しかし、発芽過程にある卵胞子では、明瞭な固定像が得られた。

卵胞子の発芽過程における大きな変化は、卵胞子壁の消失と中心部の Central reserve globule (以後CGと略記す)の消失と Central vacuole (以後CVと略記す)の出現である。

卵胞子壁は、光学顕微鏡によれば内外2層に観察されたが、電子顕微鏡によれば、内層中層、外層の電子密度の異なる3層よりなる。

さらに、外層は、グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定法では高電子密度の最外層とその内部の低電子密度の2層に分かれる(図版 20-1, 2)。

休止期の卵胞子では、卵胞子の外側を1.2-2.0 μm の均一な厚さの卵胞子外壁がとり巻いてい(図版 20)。外壁のうち中層が最も厚く、その内部には繊維状の構造が認められる(図版 21-1, 2)。発芽にあたっては、この中層が消失していく(図版 22-1, 2, 3, 4)。外壁は、中層の消失に伴って、その厚さを失い、凹凸の著しい層となる(図版 23)。また、発芽管の形成された部分では、外層、内層の2層となってい(図版 24)。発芽管は、やがてこの外層を破って形成され、発芽管壁(のちの菌体壁)は、内層と接続して形成される(図版 25)。

形成された発芽管先端には、ロマゾームが認められ、細胞は凹凸の著しい状態を呈した(図版 26-1, 2)。発芽過程に入った卵胞

子内には、複数の核が認められ、核周辺には
 ディクテイオゾームが認められた（図版 27-
 1, 2, 図版 - 28）。

卵胞子は、休止期においてその中央部に大
 きな高電子密度の物質からなる球状構造を持
 っている。この部分は、オスミウム酸固定の
 試料ではきわめて高い電子密度になることか
 ら好オスミウム性の物質と考えられるが、過マ
 ンガン酸カリウム固定でも同様に高電子密度
 となった（図版 29）。

発芽過程の進行に従って、このCGはしだ
 いに小さくなり、その周辺に巨大な空胞がま
 現した。卵胞子の原形質は、中央部を占めた
 CVのために、周辺に存在するようになる（
 図版 30）。CVの内部には、いくつかの小
 さな空胞が認められる（図版 24）。

卵胞子細胞質内には、ミトコンドリア、核、
 小胞体を認めますが、特徴的なのは、多数の

Storage body （図版 24 , 図版 23）,

Lipid - like body （図版 26-1）および, Granular

body (図版 3/1-2) である。

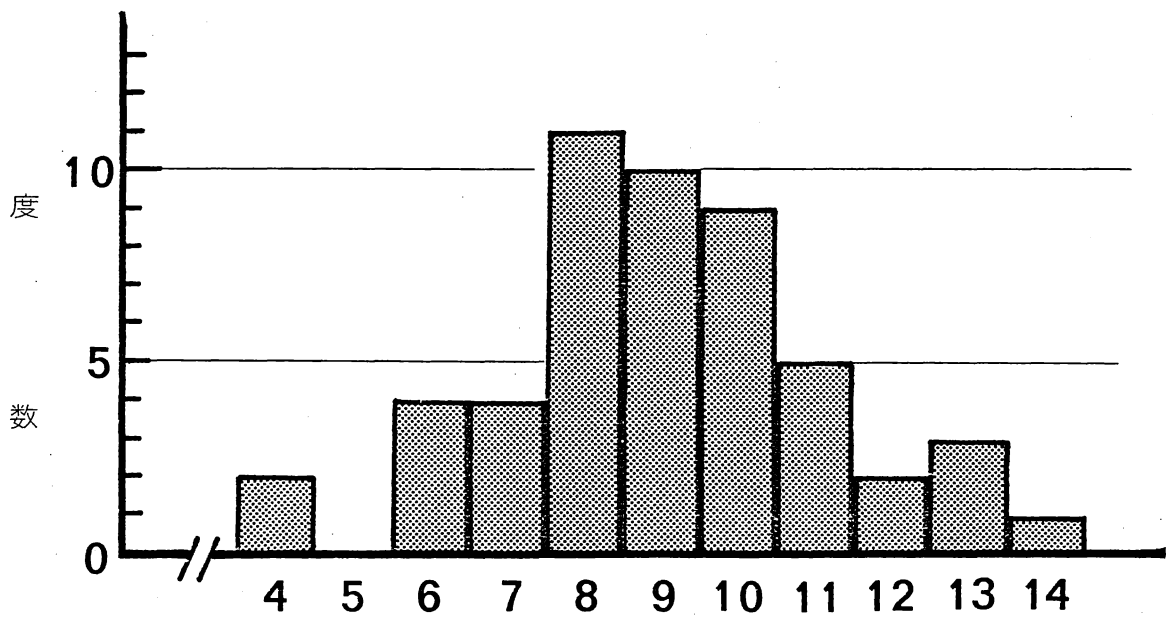
ま と め

本菌の卵胞子は、発芽管発芽以外に、遊走子発芽する。P. butleri の遊走子発芽について、²³⁾ Drechsler がその形態を報告しているが、その頻度、発芽条件などについては、知られていない。本分離菌株の場合、蒸留水中3時間以内に認められる遊走子発芽の割合は、卵胞子発芽の12%であり、この割合は時間経過と共に増加し、5時間後で25%に達した。このことは、卵胞子の遊走子発芽が、水溶液中において、容易に起る現象であることを示している。¹²³⁾ Stanghellini らは、P. aphanidermatum の卵胞子発芽において、遊走子の形成は、発芽管の一部に膨状体(遊走子のう)を形成したのち起ることを報告しているが、本菌の場合このような遊走子形成過程はまれであった。これは、Stanghellini らの実験が土壌中であるという

ことにもよるが、本菌と P.aphanidermatum の本質的な違いによるものである。本菌の場合、卵胞子が、遊走子発芽する過程で、発芽管から球のう形成が起こるのが大部分であったが、この場合、遊走子のうという決った器官の存在はなく、発芽管自体が、まづは卵胞子そのものが遊走子のうとしての機能を持つといえる。

卵胞子が遊走子を直接生じるとは、本菌の一次感染を考えた場合をわめて重要である。すなわち、通常の発芽管発芽の場合、感染源は卵胞子1コにとどまり、植物根への移動は起らないのに比較し、遊走子発芽では、その感染の場において、運動性のある遊走子を平均8-10コ(図-17)形成し、植物根の方向への移動、集積能力と、感染源の増加を示すことである。

本菌によるホウレンソウ立枯病は、高温でしかも土壤湿度の高い降雨あとなどに多発する傾向がある。多湿条件下において Pythium 属菌による病害が多発することはよく知られ、



—卵胞子から形成される遊走子数

四-17. P. butleri の1卵胞子から形成される遊走子数とその度数

これには、一次感染源でみる卵胞子の発芽率も関係していよと思われよが、多湿条件下における一次感染源からの遊走子の形成が重要な役割を果していよものと思われよ。

卵菌目の卵胞子形成過程における微細構造の変化に関する報告は、Pythium 属菌、Phytophthora 属菌^{29, 36, 43)} ³⁷⁾ 属菌でいくつか知られよが、卵胞子発芽過程に関するものはほとんどない。卵胞子の電子顕微鏡観察は、固定、包埋剤の浸透の要いこ

とから明瞭な像が得られて⁹⁰⁾いるものは少い。
この困難性は Stanghellini ⁹⁰⁾ が示しているように、
発芽過程においても認められる。

本菌を用いた実験においてもこの点同様であり今後さらに改良を要する。しかし、グル
タールアルデヒド・過マンガン酸カリウム2
重固定は、比較的良好的な結果となった。卵胞
子発芽過程における固定像は、発芽過程が進
行するほど良好となる。これは、発芽過程の
進行に伴って卵胞子に変化が起こり、固定、
包埋剤の浸透が良くなっていくためと思われ
る。

卵胞子の発芽過程における微細構造の最も
顕著な変化は、先にも示したとおり、卵胞子
外壁とCGの消失である。CGの消失は、
Stanghellini ⁹⁰⁾ らの報告とほぼ一致した結果とな
った。

卵胞子は、発芽過程に入ると卵胞子外壁に
大きな変化を生じる。とくに、中層は吸収さ
れるように消失していき、発芽管の形成され

この部分では全く認められず、内層・外層のみとなつてゐる。そこで、外層はやがて破壊され、内層が発芽管壁となり、発芽管が形成される。

固定・包埋時の浸透阻害は、発芽過程の進行に従つて明瞭な像が得られざることから考えて、外層と中層による影響が大きいと思われろ。これら卵胞子外壁の浸透に対する阻害作用は、電子顕微鏡観察のための固定液・包埋剤のみならず、農薬などのものについても同様と思われろ。

IV-2-4. 土壌への Pythium butleri の卵胞子接種とホウレンソウ立枯病の発生

P. butleri 卵胞子は、in vitro の条件下、蒸留水中において最大 87% の発芽率を示した。しかし、このような蒸留水中における発芽率、発芽形態が、土壌中においても同様に起こり、発病に関与してゐる否かについては不明で

ある。Pythium 属菌の卵胞子は、耐久器官であり、土壌中における本属菌の長期生存のための重要な器官となっている。しかし、土壌中における生存については、ほとんど知られておらず、発芽形態など詳細は不明である。

Pythium 属菌の病害は、多湿条件下で多発するといわれているが、これら多湿条件下での卵胞子の行動、発芽について、ほとんど知られていない。本属菌による病害発生と防除について考える場合、卵胞子の土壌中における発芽状態と、卵胞子からの感染・発病について調べる必要がある。本項においては、土壌中、根圏土壌中における卵胞子の発芽率と、発芽形態について調べ、卵胞子の長期生存と、発病について考察した。

材料と方法

P. butleri 分離株 SP-10-1 は、SCH 培地上で 30℃ 14 日間培養し、IV-2-2 の方法

により菌糸から遊離し調製した。

卵胞子は、それぞれ 1.63×10^4 コ/ml, 3.26×10^3 コ/ml, および 3.26×10^2 コ/ml とするよう蒸留水で希釈し、乾土 1 Kg 当り、各卵胞子懸濁液 100 ml を加えよくかくはんしたあと 16 cm ポットに入れた。土壌は、農林技術センター圃場より採集した土壌を用い、対照区として 1.5 気圧 45 分加圧殺菌したものを供試した。

卵胞子を接種した土壌には、ホウレンソウ徒芽種子を播種後、ガラス温室内で栽培し、立枯病の発生を調査した。なお、ホウレンソウの種子の播種は、卵胞子接種直後、接種 1 週間経過後（灌水しガラス温室内に放置）、および接種 93 日経過後に行った。

土壌中における卵胞子発芽率は、SCH 培地上に、メンブレンフィルター（ガートリウス製、セルロースナイトレートフィルター・直径 25 mm, ポアサイズ $8 \mu\text{m}$ ）を敷き、病原菌を接種、フィルター上に形成された卵胞

子を、フィルターごと土壤中に埋没する方法により調べた(四-18)。

土壤中に埋没したフィルターは、18時間後に取り出し、土壤粒子を流水で洗浄後、コットンブルーで染色し、フェノール中に封入後、発芽率を調査した。発芽率は、殺菌土壤、根圏土壤、非根圏自然土壤の3種類について調べた。

実験結果

P. butleri の卵胞子接種直後と、1週間後にホウレンソウを播種した場合には、殺菌土壤、自然土壤とも立枯病の発生が認められた。とくに殺菌土壤での発病は著しく、 1.63×10^3 コ/g土壤 ~ 3.26×10^3 コ/g土壤の範囲で全ての子苗が立枯となった。しかし、自然土壤では、やや発病率が減少した(表-49.50)。

接種93日経過後、種子を播種した場合、 1.63×10^3 コ/g土壤の接種濃度で62%、

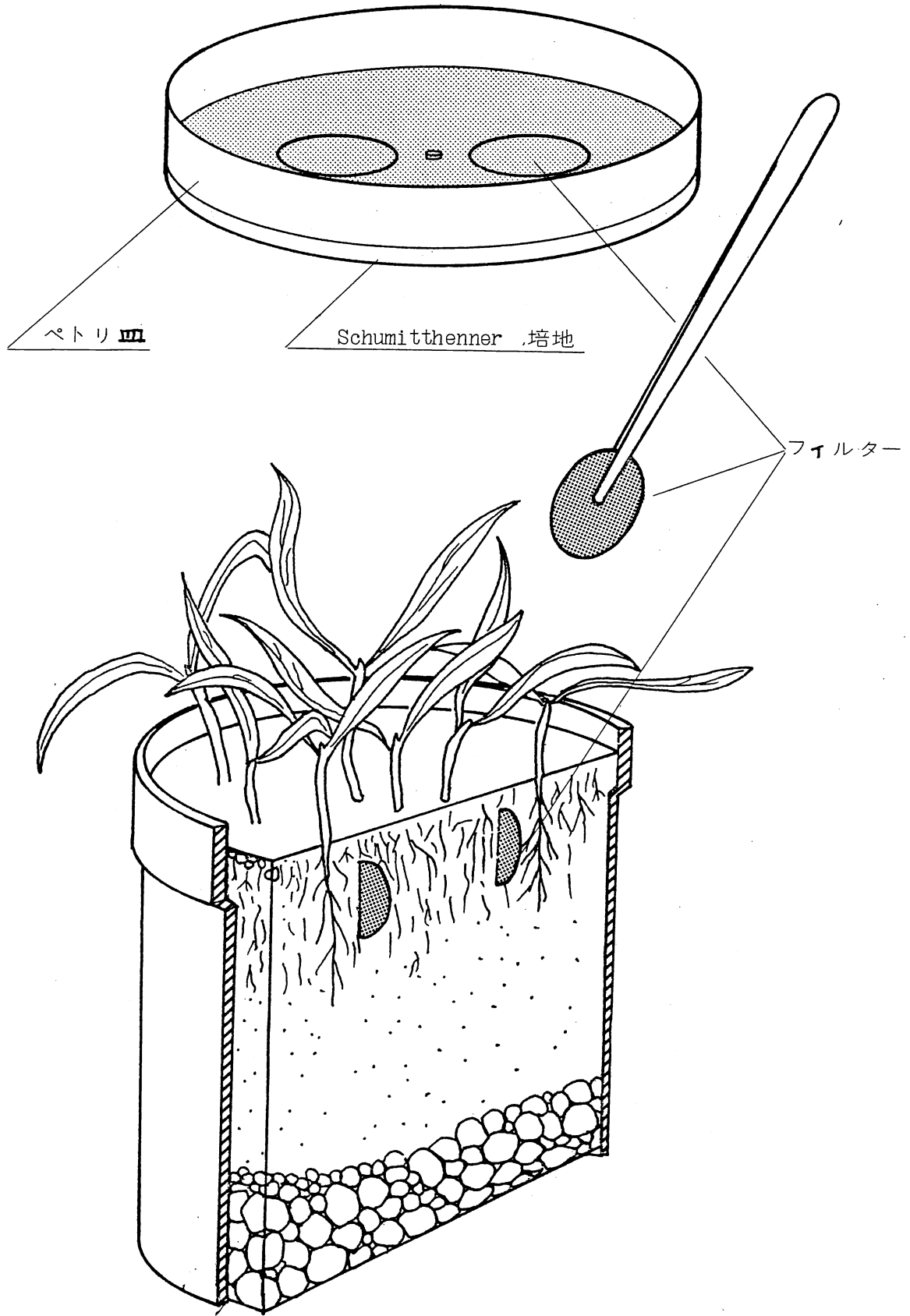


図-18. 土壌中における *Pythium butleri* 嚢胞子発芽観察のためのメンブレフィルター法

表-49 土壤中への Pythium butleri 卵胞子接種密度と
立枯病の発生 (接種直後の播種・自然土壌)

土壤中の卵胞子密度 (コ/g土壌)	発芽 個体数	播種 個体数	発病率 ^{a)} (%)
1.63×10^3	0	55	100
3.26×10^2	0	55	100
3.26×10	12	55	60
無接種(対照)	53	55	3.6

$$a) \left(1 - \frac{\text{発芽個体数}}{\text{播種個体数}} \right) \times 100 (\%)$$

表-50 土壤中への Pythium butleri 卵胞子接種密度と
立枯病の発生 (接種直後の播種・殺菌土壌)

土壤中の卵胞子密度 (コ/g土壌)	発芽 個体数	播種 個体数	発病率 ^{a)} (%)
1.63×10^3	0	53	100
3.26×10^2	0	55	100
3.26×10	0	50	100
無接種(対照)	43	50	14

$$a) \left(1 - \frac{\text{発芽個体数}}{\text{播種個体数}} \right) \times 100 (\%)$$

3.26 x 10² ㄑ/g 乾土 区で 24% の発病が認められた (表-51, 図版 32)。

表-51 土壤中への Pythium butleri 卵胞子接種と立枯病の発生 (卵胞子接種 96 日後の播種)

土壤中の卵胞子強度 (ㄑ/g 土壤)	発芽 個体数	播種 個体数	発病率(%)
1.63 x 10 ³	21	55	62
3.26 x 10 ²	42	55	24
3.26 x 10	46	50	8
無接種(対照)	49	52	6

比較のため、遊走子を土壤中に接種し、立枯病の発生を調べたところ、表-52, 53 の結果を得た。立枯病の発生は、卵胞子同様、自然土壤においてやや低くなる傾向を示し、接種密度が、1.2 x 10² ㄑ/g 乾土、1.2 x 10¹ ㄑ/g 乾土 両区では、その差が明らかであった。殺菌土壤中、接種直後の播種では、1.2 x 10³ ㄑ/g 乾土 区以外で全ての立枯となった。しかし、1 カ月後に催芽種子を播種した場合、立

表-52 土壤中における *Pythium butleri* 遊走子
接種密度とホウレンソウ子苗立枯病率

土壤中における 遊走子濃度(コ/g 乾土)	ホウレンソウ子苗立枯病率(%)	
	殺菌土壌	自然土壌
1.2×10^3	100	100
1.2×10^2	100	64
1.2×10	72	43
無接種(対照)	0	0

表-53 *Pythium butleri* 遊走子接種後の経過日数とホウレンソウ子苗の
立枯病

遊走子接種密度 (コ/g 乾土)	病原菌接種、ホウレンソウ播種おさまりの日数 ^{a)}				
	0日	3日	5日	10日	30日
1.2×10^3	100 ^{b)} %	100%	100%	56%	11%
1.2×10^2	64	75	52	-	0
1.2×10	43	30	20	4	0

a) 土壌に遊走子を接種したのを3日-30日間、ポット(12cm)を放置後、ホウレンソウ雑草種子を播種し、立枯病の発生を調査した。

b) 全個体に対する立枯個体の割合(%)を示した。

根病の発生は、 1.2×10^3 個/♀ 乾土区以外の密度区で全く認められなかった。また、 1.2×10^3 個/♀ 乾土区においても発生は著しく減少（11%）した。

メンブレンフィルター法によって調べた土壌中における卵胞子の発芽は、表-54のような結果となった。供試した卵胞子は、蒸留水中において43.2%の発芽率を示したが、非根圏土壌（自然土壌）中ではほとんど発芽しなかった。しかし、ホウレンソウ根圏や、殺菌土壌中においては、それぞれ26.8%、

表-54 ホウレンソウ根圏土壌中における *Pythium butleri* 卵胞子の発芽

土 壌	卵胞子総数	発芽卵胞子数	発芽率(%)
殺菌土壌	222	64	28.8
自然土壌(非根圏)	265	13	4.9
自然土壌(根圏)	295	79	26.8
蒸留水(対照)	257	111	43.2

28.8%の発芽率を示した。このような、通常の土壌湿度(含水率22%)下においては、ほとんどが発芽管発芽であった。一方、多湿条件下(含水率37%)では、発芽率が高く、非根圏自然土壌中で12.63%、根圏土壌では52.38%となり、蒸留水中での発芽と同じ程度となった(表-55)。

表-55. 土壌の含水率と *Pythium butleri* 卵胞子の発芽率

土壌の処理	含水率の異なる土壌中の発芽率(%)	
	含水率 22%	含水率 37%
殺菌土壌	28.8	32.65
自然土壌(非根圏)	4.9	12.63
自然土壌(根圏)	26.8	52.38
蒸留水(対照)	43.2	51.62

多湿条件下の土壌中では、発芽管発芽以外に、遊走子発芽が認められ、フィルター上に被のうした遊走子や、卵胞子が遊走子発芽したこん跡が認められた(図版33-2,3)。

ま と め.

Pythium 属菌が、土壤中において十数年間生存したという報告があるが、その生存形態については不明な点が多い。本実験において、調製された卵胞子を接種したところ、感染植物の存在しない状態で3カ月間放置したのちにおいて発病が認められた。これに比較し、遊走子接種では、1カ月後において既に発病力が消失するところから、本菌の土壤中における長期に渡る生存は、卵胞子に依存するものと考えられる。

しかし、土壤中において Pythium 属菌は、栄養源が存在する場合、腐生生活をするといわれ^{9, 107, 102, 105)} れているが、その動的変化や生存様式については必ずしも明確でない。

自然土壤中において、ほとんど発芽することなく、休止状態のまま安定に存在した。しかし、ホウレンソウ根圏土壤においては、26.8%の発芽率を示し、非根圏土壤に比較

して発芽率が上昇した。しかし、こうした自然土壌中での発芽率に比べ、殺菌土壌中では比較的良く発芽し、根圏土壌よりも高い発芽率を示した。

土壌中における卵胞子の発芽は、土壌の含水量によって影響をうける。とくに、土壌水分が高い場合、その発芽率は上昇し、非根圏土壌においても 12.63%、根圏土壌においては 52.38% と蒸留水中での卵胞子発芽率 51.62% より高くなった。

土壌中での卵胞子発芽は、そのほとんどが発芽管発芽によるものであったが、土壌水分が 37% の条件下にあって、被のう遊走子、造卵器内の被のう遊走子が認められ、卵胞子発芽が起こっていることが示された。

IV-2-5. 土壌中におけるホウレンソウ立枯病菌菌糸、遊走子のう(膨状体)および卵胞子の消長。

土壌中において糸状菌は、菌糸の状態^{110, 117)}で存在することほ少なく、そのほとんどは分生胞子、休眠胞子（厚膜胞子）および菌核などの耐久器官の形態で生存する。Pythium 属菌では、一般に土壌中に遊離した卵胞子で存在することが知られている。しかし、菌糸と遊走子のうについては、土壌中の微生物により溶菌消失^{60, 72, 73, 74)}するといわれているが、その生存期間などの詳細については知られていない。

本菌の卵胞子は、前項で示したように少くとも3ヶ月間土壌中に生存し、発病の原因となる。また土壌中にある卵胞子は、非根圏自然土壌中で静菌作用を受け、ほとんど発芽しない。さらに、土壌中における、本菌卵胞子、菌糸、および遊走子のうを土壌中に埋没し、その動向を調べた。

材料と方法

メンブレンフィルター法；土壌中の菌糸、

遊走子のう，および卵胞子の存在を調べたため，従来ユンタクトスライド法が用いられてきたが，本実験においてはメンブレンフィルター法を用いた。実験方法は，IV-2-4と同様で図-18に示した。

供試土壌は，農林技術センター圃場より採取したものを，16 cmポット中に入れ実験に供試した。

根圏土壌は，16 cmポット中にホウレンソウ（品種日吉丸）を70粒播種し，双葉の展開したものを供試した。

なお，フィルターをこれらの土壌中に埋設後は，28℃に保ち，卵胞子，遊走子の消長を調べた。

フィルターの検鏡；メンブレンフィルターは，土壌に埋設後，1日，3日，5日，10日後に取り出し，蒸留水で土壌粒子を除去したのち，ユットンブルーまたは，ローズベンガルにより染色した。フィルターは，フェノー

ル中に浸漬し透過処理を行い、フェノールで封じ位相差顕微鏡で観察した。

実験結果 と まとめ

土壌中に埋没した菌糸、遊走子のうおよび、卵胞子の消長は、図-19 に示した。埋没前の状態は、菌糸、遊走子のう、卵胞子が存在したが、ほとんどの菌糸は原形質がなく、一部の部位にのみ存在した状態であった。卵胞子の大部分は、外壁が厚膜化しており、休止状態にあった。

土壌埋没後 24 時間では、本菌の器官にほとんど変化を認めなかったが、3日後には、殺菌土壌でやや菌糸片、遊走子のうの減少を認め、自然土壌では 20% 消失していた。また、埋没前に認められた空洞化した菌糸は、ほとんど消失し認められなかった。さらに土壌埋没後日数が経過すると、殺菌土壌中では比較的菌糸、遊走子のうが残存しているのに、自

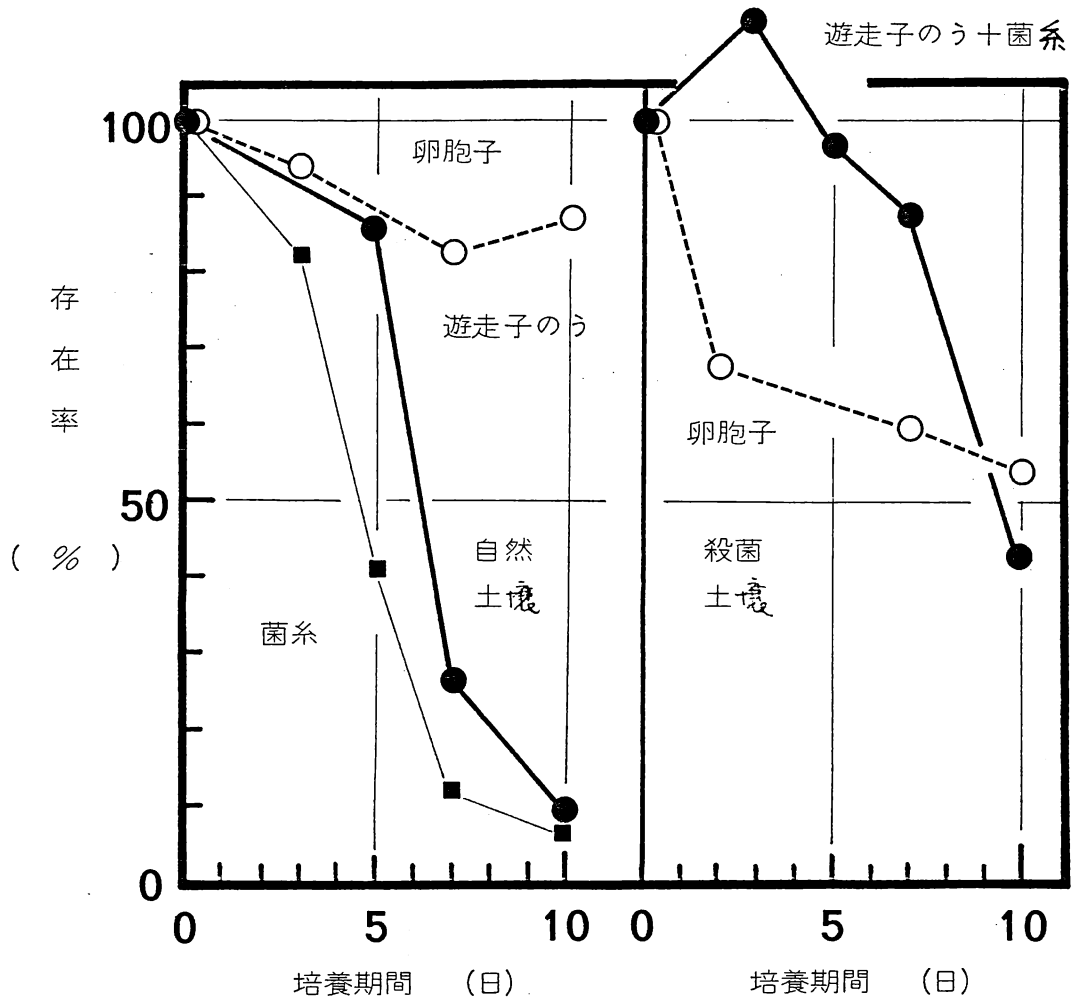


図-19. 自然土壌, 殺菌土壌における *P. butleri* の菌糸, 遊走子のう および卵胞子の消長.

然土壤中にはほとんど消失しており、10日後では菌糸、遊走子のうとも認められなかった。

一方、卵胞子は10日間の土壤埋没期間においてほとんど減少することなく厚膜の状態に存在した。

以上の結果より、自然土壤中においては、菌糸、遊走子のうはほぼ10日間で溶解され消失することに対し、卵胞子は、休止状態で安定に存在し自然土壤中で生存し得る。しかし、殺菌土壤中においては、卵胞子の発芽が認められ、その結果卵胞子数が減少した。これは、卵胞子が発芽したあと、発芽管溶菌を起し、消失することによるものと思われる(図版34)。

土壤中において卵胞子は、根物根などからの影響がないかぎり、ほとんど発芽することなく土壤中に存在するものと考えられる。そして、土壤微生物に対しても、造卵器壁は溶解消失するものの、卵胞子自体は安定で、発

芽状態にならないかぎり土壤中に長期間存在するものと考えられる。しかし、発芽した卵胞子は、発芽管周辺に多数の細菌が集積し、一部に落菌が認められることから、土壤中において生育するのは困難と思われ（図版 35, 36）。

IV-2-6. ホウレンソウ立枯病菌卵胞子に対する各薬剤の発芽抑制効果。

Pythium 属菌の耐久器官は、卵胞子であり先にも示したように、きわめて厚膜の外壁を持ち土壤中において長期間生存している。

糸状菌類の胞子は、一般に菌糸に比べて薬剤や、化学物質に対する抵抗性があることが知られており、Penicillium , Aspergillus , Chaetomium , (146, 149)

Thielavia でその抵抗性が報告されている。

しかし、逆に菌糸よりも胞子の方が薬剤に対して感受性が高い例もあるといわれている。

本菌を含めて、卵菌目の卵胞子は共通して

厚膜の外壁を持っており、固定液や包埋用樹脂の浸透が困難で、電子顕微鏡による観察の障害となっている。そして、卵胞子の外壁は、農薬などの化学薬品に対しても抵抗性を有するものと考えられる。本属菌では、ある種のものでは被のう遊走子が、菌糸よりも高い感受性を持つことが報告されているが、卵胞子については知られていない。

そこで、Pythium 属菌の防除または器具の消毒に使用されている薬剤のうち数種を選択し、卵胞子に対する効果を調べた。

材料と方法

卵胞子に対する薬剤の効果は、卵胞子の形成させたメンブレンフィルターを、各濃度の薬剤溶液中に浸漬し、30℃で24時間培養したのち、その発芽率を調べた。

薬剤処理後の卵胞子発芽能力は、フィルター上の卵胞子を各供試薬剤溶液中に3時間浸

漬したのち、さらに蒸留水中で洗浄後、蒸留水中での発芽率を調べた。

供試薬剤は、タチガレン、パンソイル、ホルマリンおよびケミクロンGを用いた。

実験結果

卵胞子は、薬剤溶液浸漬処理中にかなりの頻度で発芽するものが認められた。しかし、発芽過程に入った卵胞子、または発芽管を形成したものは、原形質分離など、細胞内部に異常が認められた(図版37-4,5)。しかし、供試薬剤のうちホルマリン1%, ケミクロンG 100倍の溶液中ではほとんど発芽が認められなかった。表-56, 57にタチガレン、パンソイルの各濃度溶液中における卵胞子の発芽率と、原形質の異常について示した。しかし、薬剤溶液中にあって発芽状態に移行しない休止期の卵胞子が認められ、これら卵胞子の原形質には全く変化を認めなかった(図

表-56 Pythium butleri 卵胞子の薬剤浸漬^{a)}
処理に対する抵抗性

薬 剤	濃 度 (ppm)	薬剤処理された器官	
		菌 糸	卵 胞 子
タネガレン	1000	+ b)	+
	100	+	+
	25	+	+
パンソイル	1000	-	+
	100	+	+
	25	+	+
ホルマリン	1	-	-
	0.1	-	+
ヘキロン G	1000	-	+

a) 薬剤に3時間(室温23°C)浸漬処理後、
叙菌水で1時間洗浄し、生死を確認した。

b) + ; 生存(培地エでの生育)が確認された。
- ; 生存が確認されな...

表-57 パンソイルとタネガレンの Pythium butleri 卵胞子発芽におよぼす影響.

導 劑	濃 度 (ppm)	卵胞子発芽率 (%)	発芽管の異常
パンソイル	1000	49.8	+
	250	38.3	+
	100	41.7	+
	50	41.2	+
	25	-	-
	10	-	-
タネガレン	1000	42.6	+
	250	44.3	+
	100	30.6	-
	50	39.7	-
	25	51.0	-
	10	43.3	-
蒸 留 水		51.7	-

版 37-3)。休止状態にある卵胞子は、薬剤を除去し、蒸留水中に浸漬するとやがて発芽管を形成し、または遊走子を形成し発芽した。しかし、この場合もホルマリン1%、ケミクロンG 100倍液で処理した卵胞子は、ほとんど発芽するものを認めなかった。

薬剤処理後の卵胞子の発芽については、表-58に示した。また、表-59に本菌遊走子の各薬剤溶液中での発芽率を示した。

表-58 薬剤浸漬処理後の Pythium butleri 卵胞子の発芽率

薬剤名	濃度 ppm・%	発芽率		
		最終の発芽率 A % a)	処理中の発芽率 B % b)	処理後の発芽率 (A-B) %
パンソイル	1000 ppm	16.4	3.0	13.4
	100	57.1	17.8	39.3
タネカレン	1000	59.0	29.8	29.2
	100	75.0	35.6	39.4
ホルマリン	1 %	0.0	0.0	0.0
	0.1	10.3	5.0	5.3
ケミクロンG	1 %	0.0	0.0	0.0
	0.1	0.0	0.0	0.0

- a) 各薬剤の溶液中に室温(23°C)で3時間卵胞子を浸漬後、蒸留水で1時間洗浄、その後蒸留水中で発芽率を調べる(最終発芽率)。
- b) 卵胞子は、3時間の薬剤浸漬処理中にも発芽し、その発芽率を示した。

表-59 各薬剤溶液中における Pythium butleri の遊走子発芽率.

薬剤名	濃度 (ppm)	発芽率 ^{b)} (%)	発芽管の伸長
パンソイル	500	0.0	-
	100	44.6	< 20 μ m
	50	69.5	< 50
	25	60.	< 50
	10	-	SW ^{a)}
タネガレン	5000	31.5	< 50
	100	37.6	< 50
	50	-	SW
	25	-	SW
	10	-	SW
ホルマリン	1.0 %	0.0	-
	0.5	0.0	-
	0.1	0.0	-
	0.01	0.0	-
蒸留水		92.8	>100

a) SWは遊走子が運動していることを示す。

b) 薬剤浸漬3時間後の発芽率

ま と め

本菌は、パンソイル 20 ppm を添加した培地上でほとんど生育しないが、遊走子、卵胞子は、パンソイル 50-100 ppm の溶液中において発芽し、これら殺菌剤は胞子の発芽に対して抑制力がほとんどない。

また卵胞子は、1000 倍希釈のホルマリン溶液中において生存しているものが認められ、菌糸、遊走子に比べ抵抗性があることがわかった。この結果より、本菌による病害防除に薬剤を使用する場合、一次感染源、すなわち卵胞子への効果についても検討すべきものと考えられる。

IV-2-7.

考 察

養液栽培における Pythium 属菌の病害は、その伝染源となる遊走子の存在が重要で、移動と植物根への集積が病害発生に対して大きな

要因となつてゐることを示した。一方、土壤中において、この遊走子は、10日以内に溶解消失し、速やかに感染性を失うから、本菌の土壤中における長期間生存に重要ではないと考えられた。

土壤中において糸状菌は、菌糸の状態が存在する^{110, 117)}ことは少く、そのほとんどは分生胞子、休眠胞子(厚膜胞子)および菌核などの耐久器官の形態で生存する。Pythium 属菌では、遊離した卵胞子で存在し、菌糸と遊走子のうは、^{60, 72, 73, 74)}土壤中の微生物により溶解消失するといわれている。しかし、土壤中において Pythium 属菌は、^{9, 101, 105)}栄養源が存在する場合、腐生生活をするといわれているが、その動的変化や生存様式については必ずしも明確でない。

一般に土壤中において、糸状菌の胞子は、^{21, 75, 76, 143)}静菌作用を受け、ほとんど発芽しないことが知られている。^{Lockwood} によれば、このような静菌作用は、土壤中における栄養源に対する微生物との競争の結果であるとされ、外部が

らの栄養の供給がある場合、土壤の発芽抑制作用すなわち静菌作用は消失するといわれている。
57, 134)

土壤中に卵胞子を接種すると、植物体の存在がなくても少くなくとも3ヵ月間生存し、感染、発病能力を示した。これは、本菌卵胞子が、土壤中における耐久器官の役割を果たしていることを示している。

本菌卵胞子は、形成されてからある一定期間を経過したのち発芽可能となる。これは、培養により形成された直後の卵胞子がほとんど発芽しないことから明らかであるが、形成されてから、発芽能力を得るまでの期間については明らかではない。本実験において、卵胞子の発芽は、培養6日後から上昇し、27日頃まで認められることから、各々の卵胞子が一定の休眠期間を持っているのではなく、幾分異なる休眠期間を持っているのではないかと考えられる。

この卵胞子は、非根圏自然土壤中において

ほとんど発芽せず、休止状態のまま安定に存在した。また、ホウレンソウ根圏においては、26.8%の発芽率を示し、自然土壌非根圏に比べて発芽率が上昇した。これは、本菌卵胞子が、発芽に際し、根圏から影響を受けていることを示しており、この現象から、本菌卵胞子が自然土壌中においてほとんど発芽しないのは、土壌の静菌作用によるものと考えられる。^{22,33)}

土壌中における本菌卵胞子の発芽は、湿潤条件下においておこる。これは主に発芽管発芽によるものであすが、一部に直接遊走子を形成するものが観察された。Pythium 属菌卵胞子が水溶液中で直接遊走子を形成する現象は、Drechsler により報告されているが、土壌中においてこの種の現象を始めて明らかにした。

本菌卵胞子は、厚膜の外壁を持っている。このため土壌中において、卵胞子は造卵器壁を消失するものの、微生物の攻撃をのがれて生存する。しかし、発芽管を形成した卵胞子

は、厚膜の外壁が消失しており、このため土壌中の微生物の攻撃をうけ溶解消失する。この現象は、厚膜化した外壁が土壌中における卵胞子の生存にとって重要であることを示している。この外壁は、薬剤に対しても透過性の妨げになっており、薬剤濃度の低い場合、卵胞子はほとんど発芽力を失わない。この現象は、卵胞子が休眠状態にあるかぎり、土壌中において微生物の攻撃、または農薬からのがれて生存し得ることを示している。

本菌卵胞子が土壌中、多湿条件下において遊走子発芽することは、土壌中の病原菌密度が短時間で上昇することを意味しており、本菌による病害が、土壌中、高温多湿条件下で至わめて短時間で発生することをよく説明できる。

Pythium 属菌による病害は、多湿条件下において発生、被害が著しいといわれている^{2, 10, 44, 102, 120)}。このような多湿条件下では、菌の活動がエカ¹³⁾んになる以外に、植物体の根の酸素要求¹³⁾、根圏

53)

分泌物など生理的な影響に起因するともいわれ
ていさ。本菌の場合、Brown¹³⁾が示した大豆の
立枯病と比較して、互わめて発病までの時間が
短いことから、植物の生理的な変化よりはむしろ、
病原菌の発芽感染能力に原因するもの
と思われさ。

このように、本菌のホウレンソウ子苗感染
後の生活環は、ほぼ図-20のようになさ。
とくに、卵胞子よりの遊走子形成が土壤中に
おいて認められたことから、この遊走子発芽
を生活史の中に新たに加えた。

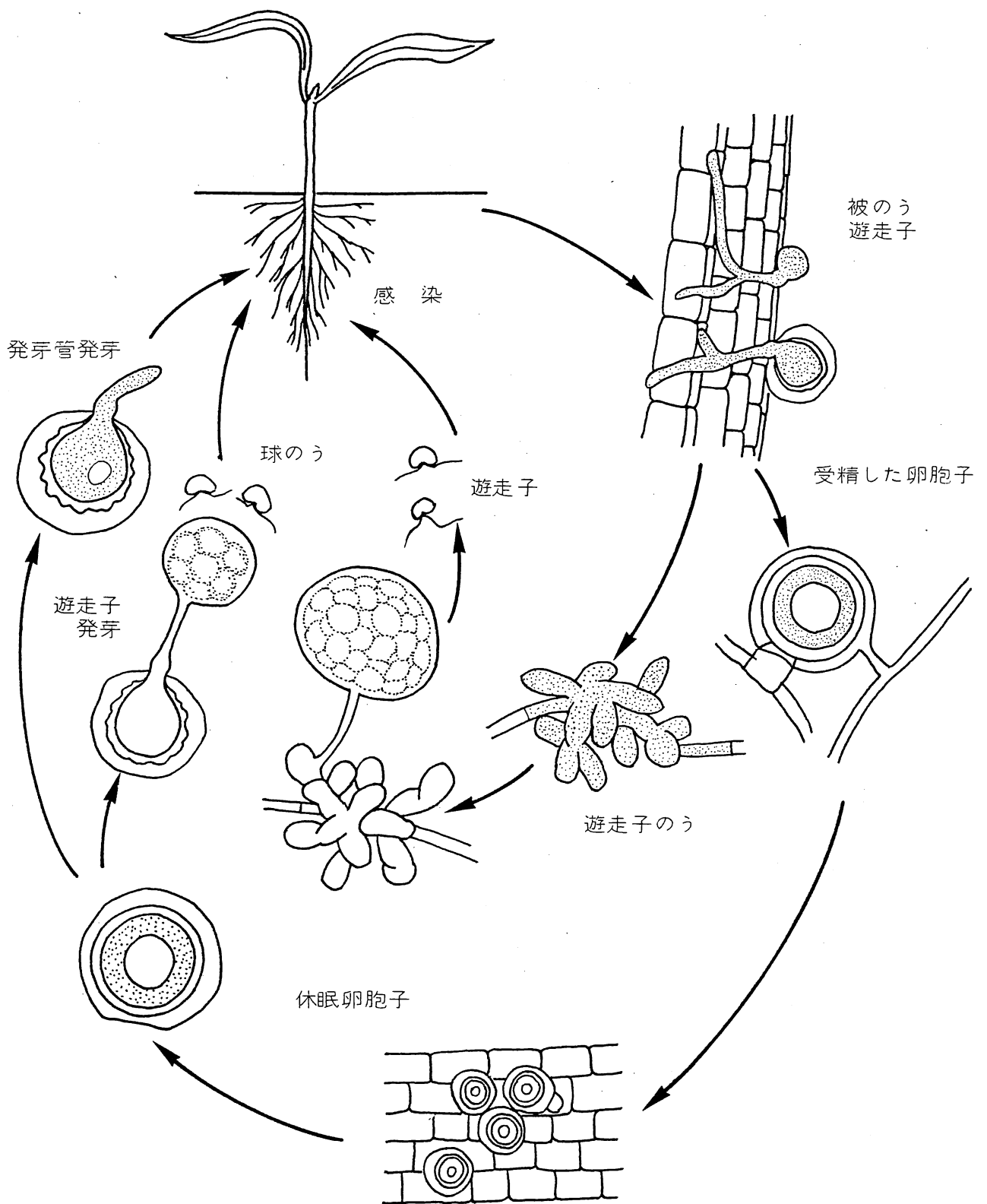


図-20 P. butleriの生活史

V. 自然土壤中における放線菌による Pythium 属菌の溶菌と立枯病の減少

土壤伝染性植物病原菌の土壤中における溶菌現象は、土壤微生物との拮抗の結果であるといわれ^{106, 76, 77)}ている。そして、この溶菌現象の原因として土壤中の溶菌微生物の存在をとりあげた報告がいくつか知られる。

Mitchell⁸⁹⁾ は、土壤にキチンを添加し、キチン分解菌を増殖させることにより、キチンを菌体壁成分に持つ Fusarium 属菌の減少が起こることを示している。さらに、Skujins¹¹⁷⁾ らは溶菌放線菌の産生する酵素が、病原菌の菌体壁成分を分解することを報告しており、溶菌放線菌の産生する酵素の種類と、菌体壁成分の重要性を指摘している。

Pythium 属菌菌糸は、前項で明らかにしたように自然土壤中で溶菌を起こすが、この現象は、放線菌を接種した土壤においても観察される。Pythium 属菌菌糸の土壤中における溶菌現象は、本属菌

の土壌中における生存様式や、病害発生上重要である。実験的に自然土壌中において本属菌による病害を発生させた場合、かなりの高い密度の病原菌菌糸を接種する必要がある。これは、外部からの病原菌の侵入に対し、自然土壌が抑制効果を持っていたためと説明される。

本項においては、土壌中における Pythium 属菌による病害発生と落菌について調べ、病原菌の土壌中における存在形態について考察した。

材料と方法

供試菌 ; 供試病原菌として Pythium aphanidermatum (大阪府立大学保存菌株 NO. 19 号菌) を用いた。放線菌は、京都大学遺伝学研究室の圃場、および大阪府立大学附属農場より分離した。なお、供試放線菌の Pythium 属菌とその他病原菌に対する落菌力は、表-60 に示した。

表-60 土壤より分離された放線菌の病原菌(糸状菌)菌体に対する溶菌力

供試病原菌	放線菌の病原菌菌体溶菌力	
	L-2	L-5
<u>Pythium aphanidermatum</u>	+++	+++
<u>Pythium debaryanum</u>	+++	+++
<u>Pythium ultimum</u>	+++	+++
<u>Pythium vexans</u>	++	++
<u>Phytophthora infestans</u>	++	++
<u>Phytophthora parasitica</u>	++	++
<u>Phytophthora capsici</u>	+	+
<u>Fusarium oxysporum</u>	++	+
<u>Fusarium solani</u>	+++	++
<u>Fusarium roseum</u>	++	++

+++ ; 透明帯の巾が5mm以上.

++ ; 透明帯の巾が3-5mm

+ ; 透明帯の巾が3mm以下.

放線菌の土壤導入 ; 放線菌を土壤へ導入するための培養は, ジャガイモ煎汁培地で28°C, 5日間振とう培養により行った。培養により得た菌体は, 滅菌水により洗淨後, 超音波処理(19.5 KHz, 5分間)により均一に分散させた。放線菌の濃度は, 顕微鏡下,

150 倍視野中に菌糸片 30 - 50 存在するように希釈調製した。

Pythium aphanidermatum 接種源の調製 ; 病原菌は,
Escobar ²⁷⁾ の方法により調製した。すなわち 300 ml の三角フラスコ中に 100 ml のジャガイモ煎汁培地を加え, 病原菌を接種後 28°C, 5 日間静置培養を行い, 得られた菌そうを滅菌水で洗淨後ワーリングブレンダーで処理し 300 ml の滅菌水に希釈した。

キュウリ立枯病の発生調査 ; あらかじめ, 病原菌を 900 g の乾土を入れた 12 cm ポットに 200 ml ~ 100 ml 添加し, 病原菌密度が 6×10^4 菌糸片 / g 乾土 ~ 3×10^3 菌糸片 / g 乾土となるように調製した。土壌に病原菌を接種後キュウリ (岳種・四葉) 種子を, 各ポット当り 15 粒播種し, 10 日後の立枯病発生率を調査した。

土壌中における放線菌 L-2 の増殖 ; 圃場より採取した土壌を 2 mm のフルイにかき、12 cm ポットに入れたのち、2 気圧、60 分の加圧滅菌を行った。この土壌に、放線菌 L-2 接種源を 50 ml 添加し、土壌を十分にかくはんした。対照として自然土壌についても同様に行った。放線菌を接種した土壌を 28 °C に保ち、経時的に放線菌を分離し、生存数を調査した。

土壌中からの放線菌の分離は、表-61 に示した組成の選択培地を用い、希釈平板法により行った。この培地上において、放線菌 L-2 は、透明帯 (clear zone) を形成したコロニーとして分離されるので、この透明帯を形成したコロニーを計数し、放線菌数とした。

落菌放線菌接種土壌における病害発生 ;

P.aphanidermatum 接種土壌に、放線菌を接種増殖させた場合の病害発生状況は、12 cm ポット中の滅菌土壌に病原菌、放線菌を同時に接種

表-61 落菌放線菌分離用培地.

成 分	濃 度 (g/l)
K_2HPO_4	0.8
KH_2PO_4	0.2
$(NH_4)_2SO_4$	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	trace
$CaCl_2$	trace
Agar	15.0
乾燥菌体粉末	2.0
蒸留水	1000 ml.

を行い調査した。900gの殺菌土壤に、病原菌接種源 50 ml を接種後、放線菌接種源 (1.07×10^6 菌糸片/ml) を 50 ml 接種し、28°C にて 3 日間培養したのち、キウリ子苗 (播種後 4 日) を移植し、6 日後の立枯病率を調査した。

実験結果

溶菌放線菌の分離； P.aphanidermatum 菌体を溶解する放線菌の分離は、培地に P.aphanidermatum 乾燥菌体 2% を含む無機塩類を用いて、希釈平板法により行った。この培地において病原菌菌体を溶解する放線菌は、コロニー周辺に透明帯を形成する。この放線菌より直径の大きい、明瞭な透明帯を形成するものを分離し L-2, L-5 とした。

これら 2 種類の放線菌は、通常の対峙培養において、P.aphanidermatum に対し阻止帯を形成しない（表-62）。

表-62 放線菌分離株の Pythium aphanidermatum に対する生育阻止帯の形成能力

放線菌 (No.)	生育阻止帯中 ^{a)} (mm)
8	15.5
30	34.0
51	20.0
L-2	0.0
L-5	0.0

a) PDA 培地上における生育阻止帯中

放線菌 L-2 の産生する酵素活性 ; 放線菌の産生する酵素が P. aphanidermatum の乾燥菌体を溶解する活性があるか否かについて検討したところ、乾燥菌体を溶解し、還元糖 (β -D-グルコース) を生じた。この粗酵素は、ラミナリン、カルボキシメチルセルロースに対して活性を示したが、セルロースパウダーについてはほとんど活性を示さなかつた (表-63)。

表-63 放線菌 L-2 の培養液より抽出した粗酵素^{a)}の各基質に対する活性

基 質	濃度 ^{b)} (%)	酵素活性 ^{c)} (β -D-Glucose μ g/ml)
セルロースパウダー	0.25	3
カルボキシメチルセルロース	0.25	12
ラミナリン	0.05	75
<u>Pythium aphanidermatum</u>	0.05	35

a) 放線菌 L-2 の培養液 1 l を硫酸アンモニウムにより塩析 (飽和度 0.8) し、0.01 Mol pH 5.0 の酢酸ナトリウム緩衝液で透析したものを粗酵素液として用いた。

b) 0.05 Mol の酢酸ナトリウム緩衝液中の濃度。

c) 粗酵素液 1 ml, 基質 5 ml を 36°C で 60 分培養し、加熱により反応を停止し、上清を β -D-グルコースの酵素定量を行った。

放線菌 L-2 の土壌中における増殖 ; 希釈平板法により土壌中での放線菌 L-2 の生育を調べたところ、図-2/、22 の結果を得た。

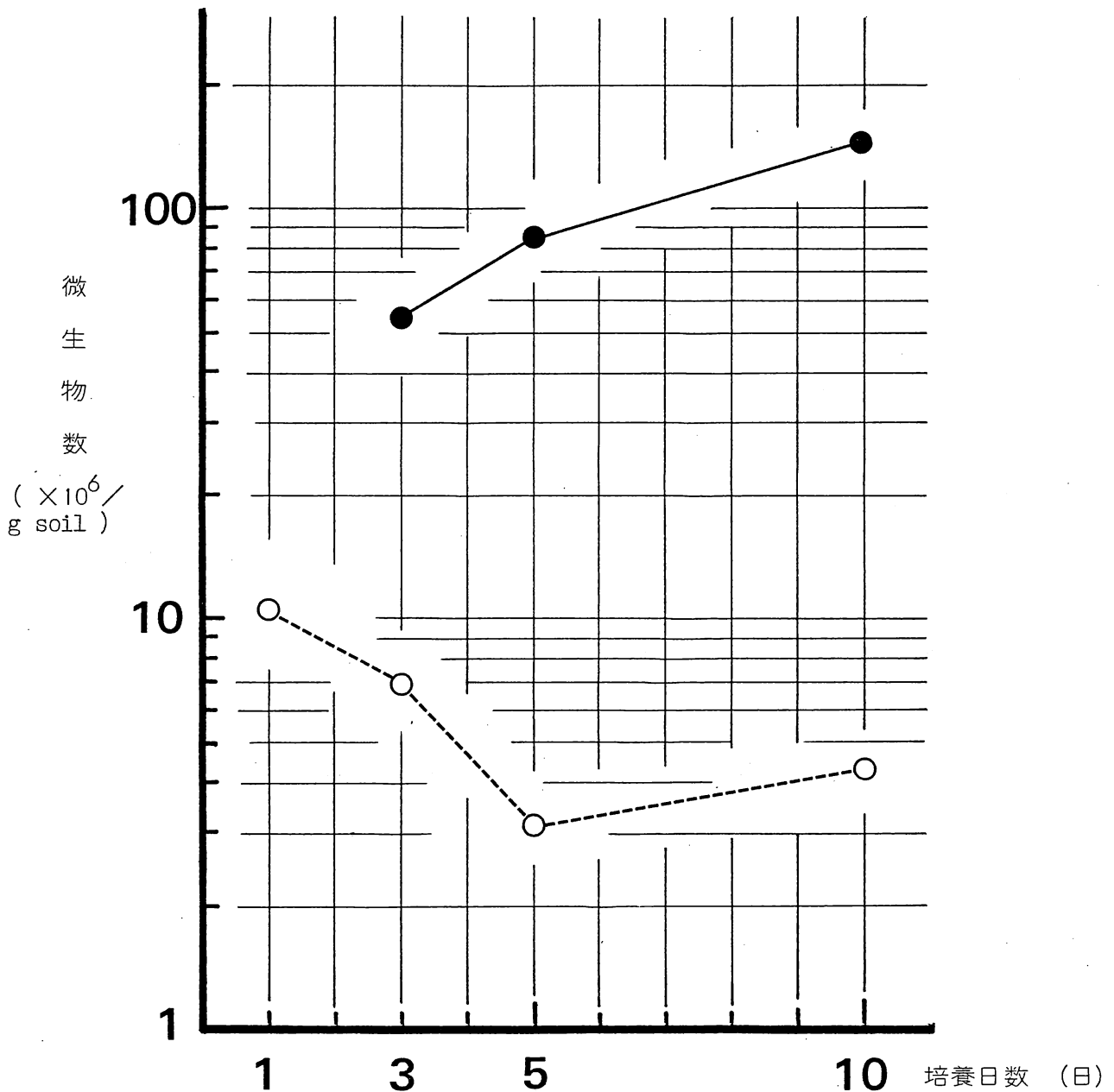


図-2/.. 自然土壌中における放線菌 L-2 の増殖

—●— : 土壌中における全微生物数
 -○- - : 放線菌 L-2 の菌数

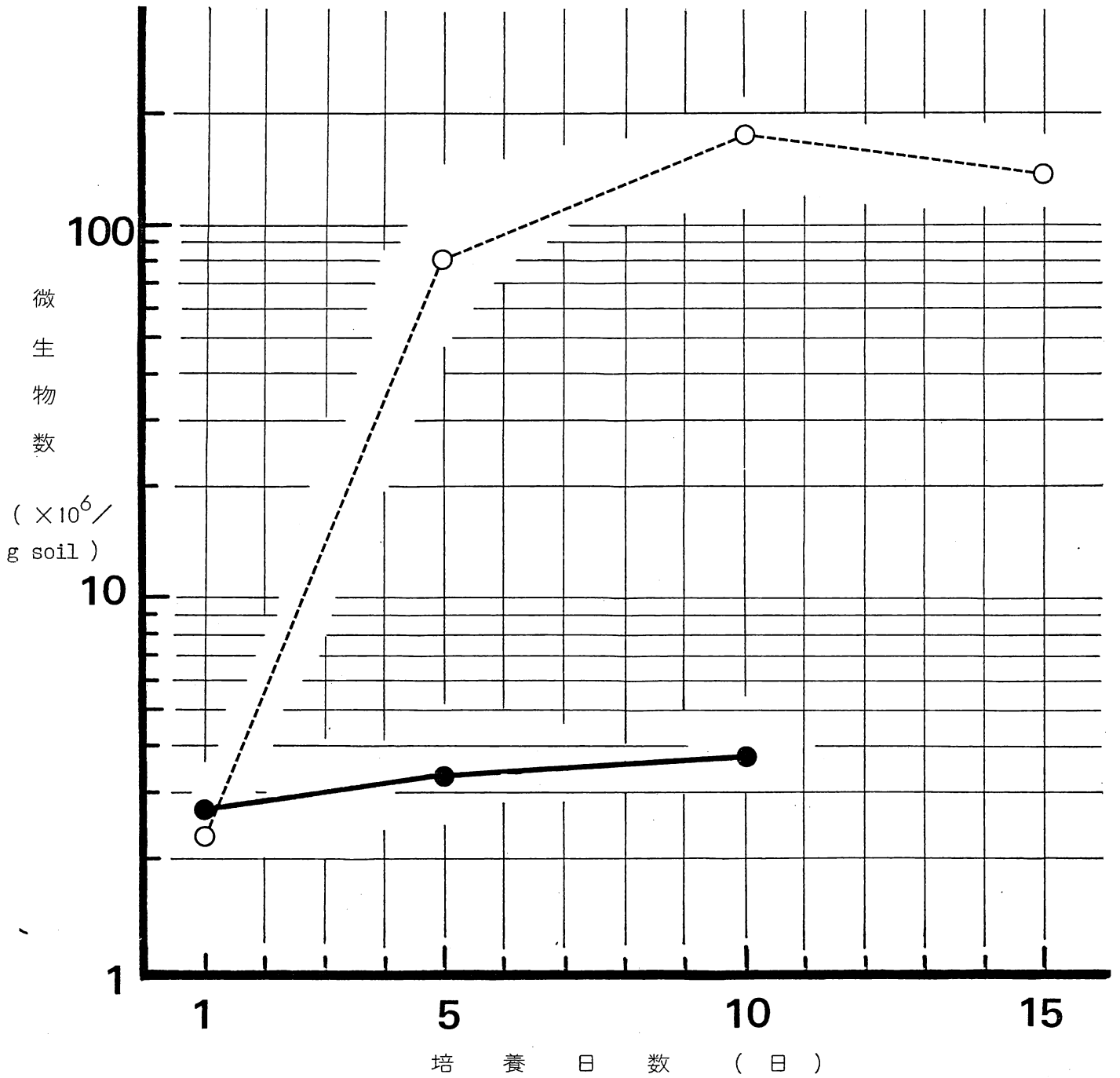


図 - 22 殺菌土壌中における放線菌 L-2 の増殖

---○--- : 放線菌 L-2 の菌数
—●— : 放線菌 L-2 以外の微生物数

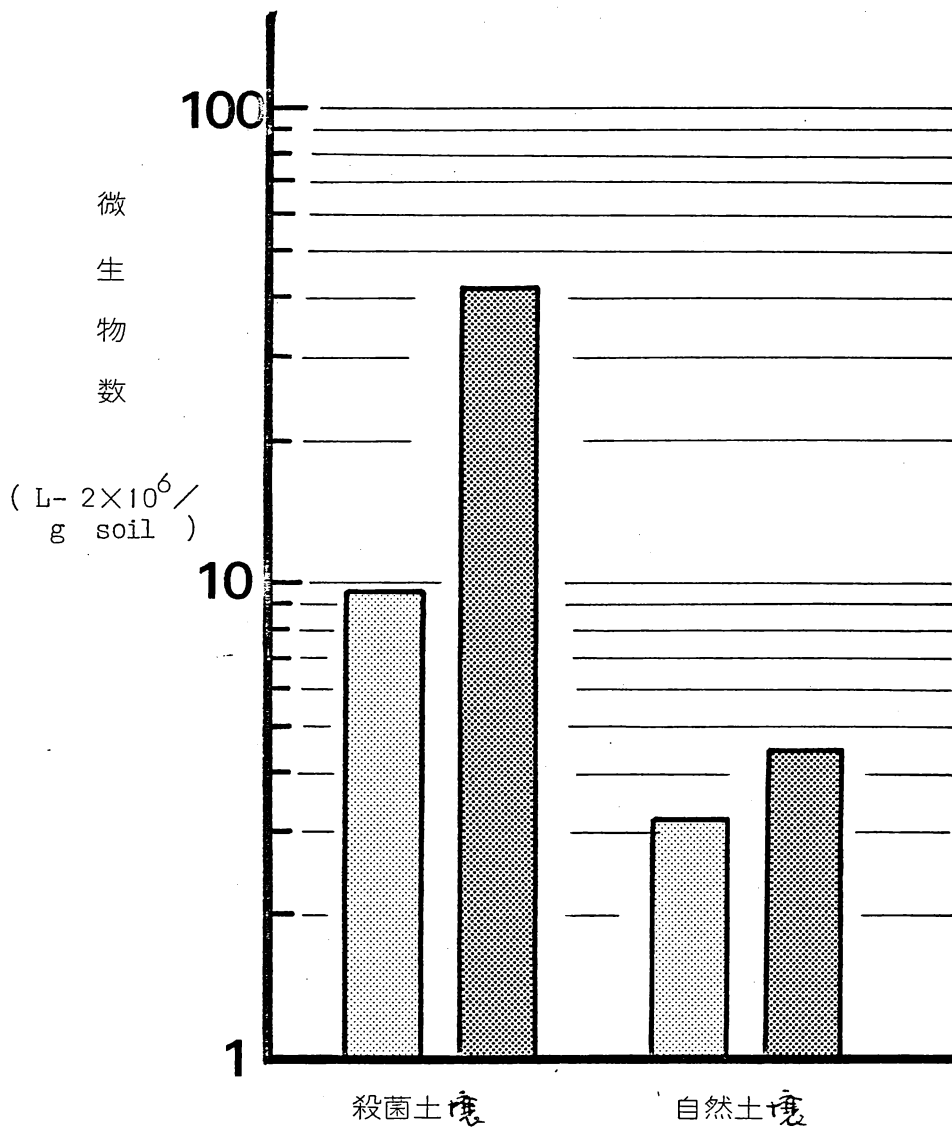


図 -23 *P. aphanidermatum* 菌体添加状態における放線菌のL-2 の生育
 : 放線菌 L-2 のみを土壌に導入した場合の増殖
 : *P. aphanidermatum* を添加した土壌に放線菌L-2を
 導入した場合の増殖

放線菌 L-2 は、殺菌土壌中において著しい増殖を示すが、自然土壌中においては増殖を認めず、むしろ、接種時よりも減少する。

この土壌中での放線菌 L-2 の増殖は、土壌に P.aphanidermatum の接種源を 100 ml 添加した場合、高くなり、とくに放線菌のみでは増加の認められなかった自然土壌においても菌数の増加を認めた (図 - 23)。

土壌中への P.aphanidermatum 菌系接種と立枯病の発生 ; 土壌中における病原菌接種密度と発病の関係を調べるところ表 - 64 の結果を得た。殺菌土壌中における発病率は、 6×10^4 菌系片 / g 乾土 \sim 3×10^3 菌系片 / g 乾土の密度において 100 \sim 87 % と高い数値を示したが、自然土壌においては、同一密度において 73 - 53 % の発病率にとどまった。

落菌放線菌接種土壌における P.aphanidermatum による立枯病の発生 ; 殺菌土壌において、

表-64 Pythium aphanidermatum 菌糸接種による
キュウリ子苗の立枯病の発生率

工場の処理	接種濃度 (菌糸片 /g 乾土)	立枯率 (%)
殺菌工場	6×10^4	100
	3×10^4	86.7
	3×10^3	86.7
	0	6.7
自然工場	6×10^4	53.3
	$x 10^4$	73.3
	3×10^3	53.3
	0	26.6

P.aphanidermatum は、高い発病率を示すが、自然工場において発病率は低下する。そこで工場中における病害発生と工場微生物の関係を知らすために、殺菌力のある放線菌、阻止帯形成能力のある放線菌を接種し、病害発生の変化を調べ、工場中の微生物と P.aphanidermatum 立枯病発生との関係について調べた。

殺菌工場中に供試放線菌と、P.aphanidermatum を同時に接種したときは、四-22 同様放線

表-65 放線菌接種土壌における Pythium aphanidermatum による立枯病の発生.

土壌の処理	立枯病発生率 (%)		
	1	2 ^{a)}	平均値
放線菌 NO.8 接種土壌	60	53	57
放線菌 L-2 接種土壌	27	40	33
細菌 土壌	67	80	73
病原菌無接種(対照)	0	13	7

a) 実験のくり返し回数を示す.

菌が増加するものが認められた。その結果、滅菌土壌中での発病に比べ、放線菌接種土壌では発病が抑制される。(表-65)。この放線菌接種土壌における発病抑制現象は、放線菌の種類により異なり、放線菌 L-2 で高い傾向を示した。

考 察

P. aphanidermatum の土壌中における存在様式が、卵胞子であることを前章で明らかにした。

本章では、Pythium aphanidermatumを用いて、前章で示唆された拮抗微生物の存在について検討した。

土壌に P. aphanidermatum 菌糸を接種し、発病を調査したところ、殺菌土壌では高い発病率が得られたが、自然土壌では発病が不安定で、発病率も低率であった。この理由の一つには、先にも述べた⁽¹⁰⁵⁾ 溶菌作用を持つ微生物の存在が考えられる。事実、土壌中には、Pythium 属菌菌体を溶解する微生物が 12.5×10^5 コ/g 乾土 存在し、全土壌微生物の3%の割合で検出される。このうち、放線菌 L-2 を用いて培地上での溶菌作用を検討したところ、培地中において P. aphanidermatum 菌体を溶解し透明帯を形成することが示された。また、培地中には、菌体や菌体壁の主成分であるラミトリンをか解する酵素を産生した。これは、放線菌 L-2 が、P. aphanidermatum 菌体を溶解し生育可能なことを示している。また、土壌中に放線菌を接種し、病害発生を調べると、殺菌土壌、

自然土壌とも対照区に比較して減少した。さらに、土壌中に、放線菌と P. aphanidermatum 菌体を同時に導入した場合、放線菌の生育が良好となる。このような病害発生の低下は、溶菌放線菌 L-2 にかぎらず、阻止帯形成能力のある放線菌によっても多少認められた。この結果は、自然土壌中における Pythium 属菌の病害発生が溶菌放線菌や、その他溶菌力のある土壌微生物により影響を受けるとを示している。

実験的に、P. aphanidermatum 菌糸を土壌に接種し、病害発生を起させるとする方法はしばしば使用される。^{27, 103, 132, 140, 148)}しかし、土壌中に“菌糸”のみを接種した場合には、病原菌を土壌に定着させ、発病を起すことが困難である。このことは、Pythium 属菌などが、放線菌など溶菌微生物により溶解され易いことと密接に関連あることを示しており、土壌中における本属菌の存在様式に卵胞子の重要性があらためて指摘できる。

VI 養液栽培における Pythium 立枯病発生 防止に関する総合考察

——とくに工耕栽培との比較——

VI-1 ベンモ菌類による病害の特殊性

糸状菌類は、単純で単核の全実性形態から、栄養体と繁殖体が分化し複雑化した真実性の形態のものへと進化している。このような、糸状菌類の形態的な変化は、せい息する環境への適応と密接な関係がある。いわゆる“藻菌類”にみられる形態上の変化は、水中という生活環境から、腐生菌 (Mucorales)、植物寄生菌 (Peronosporales)、動物寄生菌 (Entomophthorales) のような陸上生活に適合する進化と平行して¹³⁶⁾ いる。

このいわゆる藻菌類は、ベンモ菌類 (Mastigomycotina) と接合菌類 (Zygomycotina) を含むが、その生活圏は主に水中であり、潮沼、池、川における糸状菌相のほとんどを占める

20, 106, 109, 118, 119, 131) といわれている。このような水中の微生物相の大半を占めるというべんも菌類においても、水中生活者から、陸上生活者への適応性の分化が認められる。Sparrow¹¹⁸⁾ は、このいわゆる藻菌類における生活圏とその繁殖形態について表-66 のようにまとめている。

表-66 Sparrow によるいわゆる“藻菌類”の分類

目の名称	繁殖法	棲息域
Chytridiales Blastocladales Monoblepharidales Hyphochytriales Plasmodiophorales Leptomitales Lagenidiales	遊走子	水生
Peronosporales	遊走子または分生胞子	陸生 Pythiaceae 両生
Mucorales	分生胞子	陸生 Ancylistes 両生

遊走子を形成するべんも菌類のほとんどは、水中生活者であるが、Peronosporales は; Peronosporaceae, Albuginaceae などのように分生胞子を形

成する菌を含み、空中を伝播する種が多いことから、陸上生活型に分化した菌ということが出来る。可なり、Peronosporaceae と Albuginaceae に属する糸状菌による病害は、空気伝染が主体となり水に依存することは少ない。しかし、同じ Peronosporales のうち Pythiaceae はその伝染源が一部の種を除き、遊走子であり、伝播は水に依存している。また、Pythium 属菌および Phytophthora 属菌は、土壌伝染性病原菌として知られている一方、湖沼などの水中からも分離され、⁽³¹⁾ 土壌と水中の二つの異なる環境に適⁽³²⁾ 応性を持つ。この理由で、Pythiaceae は両生菌として扱われるものと考えられる。

糸状菌の進化について諸説があるが、Gäumann ⁽³³⁾ によれば、複数の藻類より進化したとされる。そして、水中で繁栄した生物群は、古生代中期頃、陸上に進出したものといわれている。

陸上での生物群繁栄の基礎は、このような藻類や、べん毛菌類の一部と⁽³³⁾ 考えられ、これらの中から陸上生活に適応した子の菌類、

やや遅れて担子菌類が分化したといわれる。

糸状菌類の進化の方向が、水中より陸上へ向かって起り、森林内へと広く分布していったのに比較して、農業は、山間地帯の野生植物の採集に始まり、半栽培の段階、根栽、雑穀栽培を経過し、我が国では水稻栽培に至ったとされる。^{30, 98, 142)}すなわち農耕の歴史は、菌類の進化とは逆に、森林地帯から平地、さらに水の得られる河口部へと、水を求めて変遷したといえる。さらに、現在に至っては、作物自体を水中で栽培するという形態となっている。

このような農耕における栽培形態の変化は、そこに発生する病害の原因となる病原菌の種類に興味ある関係をもたせる。これは、近年さかんになった養液栽培において発生する病害を調査することから明らかにされた。すなわち、同一作物を陸上（土壌栽培を示す）で栽培する場合と、水溶液中（養液栽培）で栽培する場合に発生する病害を調査したところ、

原因となる病原菌に違いのあきことが示された。土壌栽培においては Fusarium , Rhizoctonia 属菌などの子のう菌, 担子菌による病害が多く, 養液栽培では, Pythium , Phytophthora 属菌といった水生菌(いわゆる“藻菌類”)による病害が多いという現象である。これは, それぞれの環境には, 環境に適応性を持った微生物がせい息しており, 感受体となる植物にその環境において優性である菌による病害が多発することを示している。

土壌栽培においてもべんも菌類, すなわち Pythium と Phytophthora 属菌による病害が⁹⁹⁾発生し, 栽培上問題となることが多い。しかし, 養液栽培におけるほど多発し, 被害が大変くなることはない。これは, 水中におけるべんも菌類の繁殖と伝播に関係があるが, それ以外にも水中という環境が, これら菌類のせい息しやすい状態にあることにも起因する。

Pirozynski ¹⁰⁹⁾によれば, 淡水中においてべんも菌類が優占種となり得るのは, 貧栄養条件下

による外敵の少いことに原因するととられてい
る。

培養液中の微生物数は、栽培初期、すな
わち定植直後において養液 1 ml 当り 10^3 コ
程度であり、その後増加しても 1 ml 当り 10^5
コ以下である。そして、そのほとんどは細菌
であり、放線菌、糸状菌はまわめて少い。⁽⁶²⁾ 土
壌では、1 g 当りの微生物数が、 10^7 コ、根
圏では $10^8 \sim 10^{10}$ コ 近い数値となるのに比較
して、培養液中では $1/100$ 以下であり、
土壌中とはかなり微生物生態系が異なってい
ることを示している。^(62, 134) このような、微生物数
の少いことが、病原菌の培養液中での生存
に関係している。

Pythium 属菌菌糸と遊走子のうは、土壌中
において容易に溶解される。そして菌糸、遊走
子のうを土壌中に接種した場合、放線菌のよ
うな拮抗菌が大量に増加した条件下では、溶
菌が起り、病害発生が減少することが示さ
れた。すなわち、土壌中における、拮抗微生

物の存在は、病原菌菌糸、遊走子のうを溶解し、土壤中における潜在的感染力 (inoculum potential) を減少させ、発病を抑制する効果のありことを示している。そして、土壤微生物数の増減が、静菌効果に影響するよう、微生物間の拮抗に影響を与える。このことは、培養液中において、土壤中において認められるような強い拮抗作用が、Pythium 属菌には及ばないことを示している。すなわち、培養液中における微生物の少いという現象が、Pythium 属菌の遊走子、菌糸の生存を容易なものにし、病害発生を助長している一つの要因と考えられる。

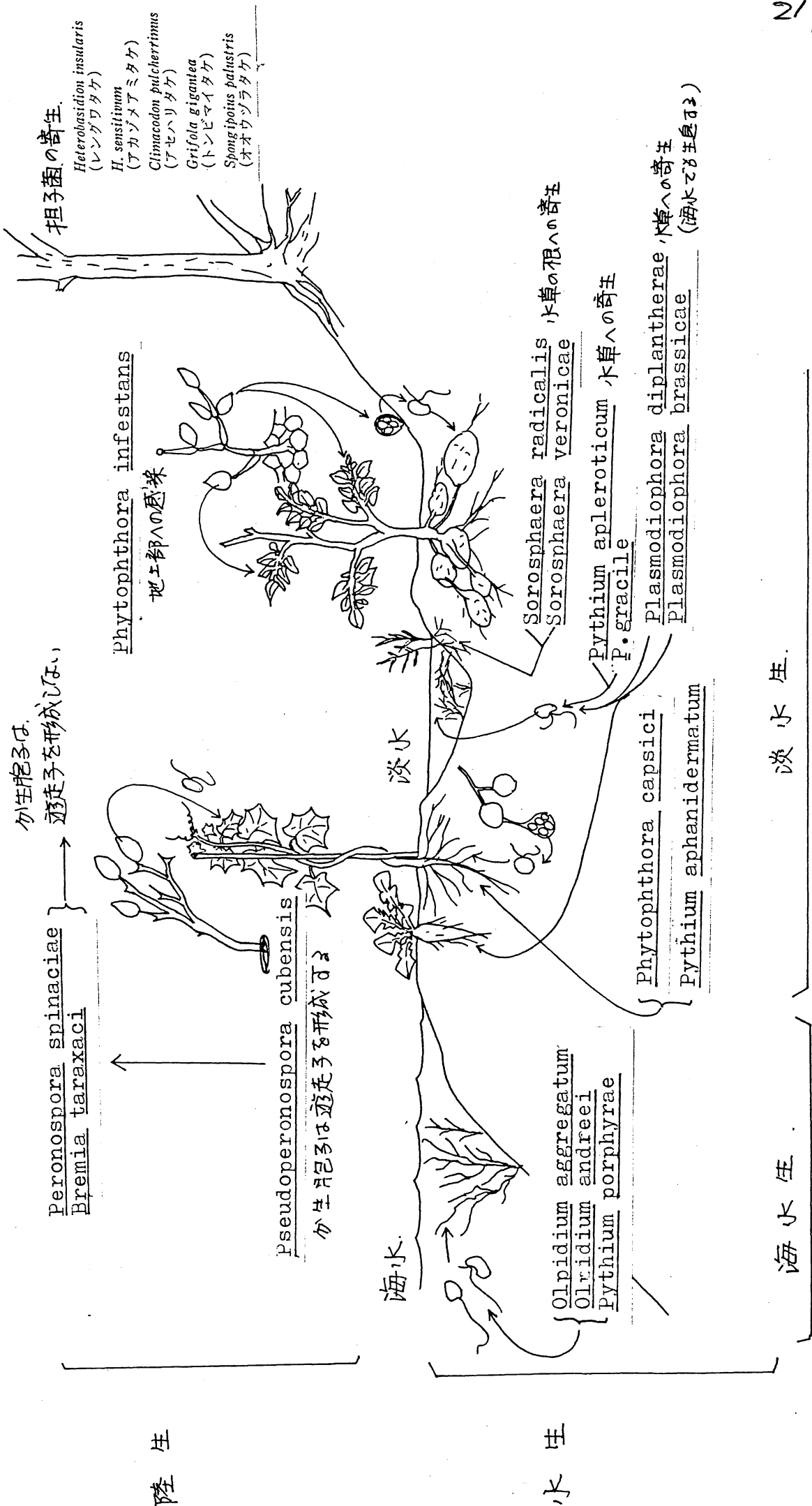
培養液中において、べん毛菌類の病害が多発し、被害が大きい原因に、遊走子の存在が考えられる。遊走子は、走化性により植物の根にすみやかに集積し感染を起こすことが知られている。そして、実験的には、菌糸に比して比較して感染力が著しく強いといわれている。

遊走子接種による発病を養液栽培と土壌栽培で比較した場合、大きな差が認められた。養液栽培では、培養液濃度の低い場合、 10^2 $\frac{1}{\text{ml}}$ 以下の遊走子濃度で100%近い発病率となるのに比較し、土壌栽培では同じ発病率を得るのに10倍の遊走子濃度を必要とした。また、養液栽培では、高濃度の培養液により遊走子を被のう化した場合、発病率の低下が認められることから、養液栽培における本属菌による病害多発は、遊走子の運動性に関係する。

以上のことから、養液栽培でのべんも菌類 (Pythium属菌を含む) の病害多発原因として、次の3点をあげる。

- 1) 淡水というべんも菌類に適した環境であり、遊走子形成、増殖がさかんである。
- 2) 拮抗微生物がほとんど存在しないため、菌糸、遊走子の生存が容易である。
- 3) “水”の存在により、遊走子の植物根への移動、定着が容易である。

なお、図-24にべんも菌類の生活圏と分化を示した。



図一24. ベンモ菌類の生活圏と分化

VI-2. Pythium 属菌の生態と防除法.

養液栽培は、作物の栽培技術としては確立された技術ではあるが、そこに発生する病害の防除技術は確立していない。養液栽培における Pythium 属菌の病害防除に対して、養液中への農薬投入という方法が行われているが、確実な防除効果とあげさには至っていない。その原因は、病原菌に対し効果を示す薬剤濃度が、作物に薬害を起すことにあると思われる。このような、養液中への農薬の投入は、栽培上必要ではあるが、農薬残留上好ましい方法とはいえない。病害防除に関し、耕種的な方法を検討することは重要である。

べんも菌類が水中において優占種であることを示したが、これは淡水中にかぎられる。海水中においては、必ずしも優占種でなく、むしろ腐生的な不完全菌類、子のう菌類が汎存種⁵¹⁾と言われる。そして、海水の塩濃度が上昇するに従って、べんも菌類の数は減少する

109)
といわれる。これは、海水中においてベんも
菌類が繁殖器官形成を抑制され増殖できない
ためとされている。このような現象は、水耕
養液中において Pythium 属菌で筆者が観察した
結果と一致する。

本実験において供試した二種類の Pythium 属
菌の遊走子形成は、いずれも2単位以上の水
耕養液濃度で抑制され、ほとんど形成されな
くなった。この結果は、水耕養液中において、
ある一定以上の塩類濃度を作れば、Pythium 属
菌の遊走子形成を抑制し、病害の伝播を減少
させることが可能であることを示している。
そして、実際の栽培条件下と同じモデル装置
を用いて、水耕養液濃度と発病の関係を調べ
たところ、濃度が上昇すると発病後の伝播が
抑制され、被害が少くなることが示された。
このように、養液の環境を変化させることは、
そこに生息する微生物の活動に影響を与え、
べんも菌類のように、水に生活の場を依存し
た糸状菌類による病害発生に影響を与える。

Pythium 属菌は、そのほとんどが水生であるが、Pythium porphyrae のように海水中において繁殖するものも知られる。⁽¹³³⁾ Pythium porphyrae は水生の Pythium 属菌とは異り、逆にある一定以上の塩類濃度がないと遊走子形成を行わず、繁殖できないことが知られている。この現象は、筆者の示した Pythium imperfectum で示した事例に比較して全く逆のことであるが、“水”を生活環境の場として生存する菌について水の環境が重要な要因となることを示している。水耕栽培において、養液の濃度以外、pH、温度、溶存酸素等の調節をすることは、そこに生存する微生物の活動を調節し、病害発生をある程度軽減できるものと考えらる。

農業生産の方法に、最近養液栽培技術を基礎として、さらに装置化の程度を高め栽培をシステム化し、工場のように作物を生産しようとする試みがある。⁽¹³⁷⁾ このような栽培形態の変化は、水稻育苗施設における不定性病害の多発のように、当然その場における新たな病

害発生の問題を生じることが考えられる。この環境変化にもとづく病害発生に対しては、病原菌の発生、生態を考察し、生物学的な面からも環境を制御し防除方法を考える必要がある。

土壌中における病害発生については、以前より、生物学的な環境を制御し、病害を防除しようとする試みが行われてきた。拮抗微生物の存在を重視したもので、最近では抑止型土壌の研究といったものにその例が認められる。土壌中におけるこうした微生物間の相互関係の解明は、個々の事例についてかなり研究されてはいるが、全体的には不明な点が多い。

Pythium 属菌の場合も土壌中においては、土壌微生物の存在により菌糸、遊走子のうがかなり容易に溶解消失することが示され、拮抗現象により、土壌中での病原菌密度の低下が起り得ることがわかる。そして菌糸のみを接種した土壌では、拮抗菌の増殖により、病害発生が抑制される結果となる。また、遊走子

を自然土壌に接種した場合についても同様のことが認められ、土壌中の微生物が、これら病原菌の生育に対し抑制的に働いていゝことがわかる。しかし、耐久性器官でみゝ卵胞子は、土壌中においてきわめて安定に存在し、長期間生存することが示された。

べんも菌類、特に卵菌目は、越冬器官として卵胞子を形成し、長期間生存して来たといわれる。陸上における Pythium 属菌による病害を考える場合、この卵胞子の不活化を考える必要がみゝ。

卵胞子は、その厚い外壁のため休眠状態にあゝかゞり、土壌微生物の攻撃や、殺菌剤に対して安定に存在する。しかし、発芽が開始されゝときわめて弱く、土壌中において発芽管は容易に溶菌を起ゝす。また卵胞子自体も、発芽過程にあゝもゝは、殺菌剤により容易に不活化する。

Pythium 属菌の病害防除には、土壌中における一次感染源となゝら、卵胞子の除去が重要

である。このためには、土壤中への卵胞子の蓄積を防ぐ必要があり、罹病植物の除去が病害防止に大切である。そして、土壤中に残存した卵胞子に対しては、発芽を誘導し減少を計るという方法が有効と考えられる。Stanghellini は、Pythium aphanidermatum の卵胞子を発芽に導き土壤中の病原菌密度を減少させることができると報告している。本実験においても、多湿条件下にすることにより、卵胞子を土壤中で発芽させることができ、発芽管溶菌を起こさせ、卵胞子数を減少させることが可能であった。しかし、卵胞子のなかには、一部このような好適条件下においても発芽しないものが認められ、これら発芽しない卵胞子の存在が病害発生にどのような役割を持つのか知る必要がある。

現在のところ、Pythium 属菌の卵胞子を土壤中から除去し、病害発生を予防することは困難である。病害予防にはある程度薬剤の使用が必要である。

土壌位染性病害の防除には、農薬の土壌施用が行なわれてゐる。土壌への薬剤の大量施用は、薬害のみならず、環境汚染の心配がある。最近、卵菌目の病害に対して効果のある浸透性殺菌剤が開発された。本実験においても種子浸漬処理によりその効果を調べたところ、子苗期の立枯をほとんど完全に防ぐことが可能であった。Pythium 属菌による病害は、ミツバ、ホウレンソウにも示されたように、問題となるのは、子苗時期で、この時期を回避さえできれば被害がない。少量の薬剤を種子中に取り込ませ、子苗時期の病害を回避できることは、従来の土壌施用より能率的で、環境汚染の危険性は少いと考えられる。しかし、植物体に取り込まれたのちの残留物、分解生成物について考慮は必要である。

摘 要

施設栽培における軟弱そ菜の立枯病は、栽培環境の変化に伴いその重要性が高まってきた。特に養液栽培では、従来の栽培法とは異なる発生状態を示しており、被害が著しい。

本研究は、軟弱そ菜に発生する Pythium 属菌の立枯病について調べ、その栽培環境と発生状態、病原菌の生態を明らかにし、生態的立場から、防除法、病害発生について論じた。

1. 大阪府下の養液栽培における病害発生状況

大阪府下のそ菜栽培面積は、都市化により年々減少傾向にあり、とくに露地野菜の栽培面積は著しく後退した。しかし、露地栽培の減少とは逆に、施設、とくに養液栽培の面積は増加しつつある。こうした養液栽培の増加は、大阪府下に限らず全国的な傾向であるが、最近これら養液栽培で発生する病害、とくに養液伝染性の病害が多発し問題となってきた。

養液栽培において発生する地下部病害を調べ、土壌栽培における土壌伝染性病害と比較したところ、その原因となる病原菌に違いのあきことがわかった。

養液栽培で発生する地下部病害で最も被害の大きいものは、Pythium 属菌と Phytophthora 属菌によるもので、土壌栽培における Fusarium 属菌等の被害が多いことは対照的であった。

養液栽培では、病害発生に対して、薬剤防除が行われていさか、卵菌目に対して有効な防除薬剤がなく、そのため作付前の施肥の消毒等消極的な防除法にたよっている。

2. 養液栽培と Pythium 属菌による病害

養液栽培において発生する子苗立枯病は、Rhizoctonia solani と Pythium 属菌によるものであることを示した。そして Pythium 属菌は、形態的特徴から Pythium imperfectum Höhnk と同定した。

土壌栽培におけるミツバ立枯病は、ほとんどが Rhizoctonia solani によるものであり、養液栽培において Pythium imperfectum の立枯病が多いのは

特異的であることを示した。

高温環境下の湿潤土壌で発生しているホウレンソウ立枯病より病原菌を分離したところ、Pythium 属菌を分離した。Pythium 属菌によるホウレンソウ立枯病は、低温湿潤条件下で発生すると云えさるが、本菌による病害は、高温環境下で発生する。病原菌の生育適温は、35-38℃と高温であり、生育最高温度は46℃であった。本菌は、その形態的特徴から、Waterhouse の検索表に従って Pythium butleri Subramaniam と同定した。

本菌は、高温域に生育適温を持つ菌であるが、本菌による病害も25℃以上の気温条件下で被害が著しく12℃以下では病害発生を認めない。

3. 養液栽培における Pythium 属菌による病害と遊走子

養液栽培において発生する両病原菌による立枯病の被害は、発生状況に違いが認められ、Pythium imperfectum による立枯病は、遊走子によ

り伝播するため栽培槽全域に広がることを示した。

養液栽培で発生する Pythium imperfectum による立枯病は、培養液濃度により発生が影響を受け、高濃度養液中において抑制された。この高濃度の培養液中における病害発生の減少は、遊走子形成が高濃度の培養液中で抑制されることと関係がある。さらに、遊走子は、高濃度の培養液中において短時間内に被のうし、これにより発病力が減少することが示された。これら二つの事例から、高濃度の培養液中における Pythium imperfectum の病害発生減少の原因は、遊走子形成の抑制、および、遊走子の被のう化促進に起因することを結論づけた。

養液栽培における薬剤混入による防除法は、病原菌の生育抑制、遊走子形成抑制等で効果を示すが、植物に対しても障害を与え示した。特に、植物に対する薬害は、高温条件下ほど著しく、高温環境下で発生してい

さきツバ立枯病の防除法としては好ましくない。しかし、最近開発された浸透性殺菌剤、Ridomil の種子処理は、Pythium 属菌による病害をほぼ完全に防ぐことが示され、今後その利用が期待される。

養液栽培における病害防除法として、薬剤の使用も一つの方法ではあるが、本病害において遊走子が、高濃度の培養液中で抑制されることを利用することも考えられる。実験的には、2単位以上の培養液濃度で発病抑制が認められ、植物体にも障害は認められなかった。

養液栽培において、養液濃度を上昇させることは、病害防除、特にべん毛菌類の病害において有効であると考えられる。

4. Pythium 属菌卵胞子の発芽と土壌中における生存

本菌の卵胞子形成は、高温条件において短期間に行われる。しかし、30°C 以上の高温条件下においては、原形質の状態の異常性の

が増加した。

卵胞子は、蒸留水中等の *in vitro* の条件において容易に発芽し、1~3本の発芽管または、直接遊走子を形成し発芽した。卵胞子の遊走子発芽は、Drechsler により低温条件下で起るこゝとが報告されたが、本菌では 25~27℃ の温度条件下においてしばしば観察され、1卵胞子から 8~10 本の遊走子を形成した。

本菌卵胞子は、蒸留水の中のみならず、土壤中においても認められ、ホウレンソウ根圏土壤、殺菌土壤中において高い発芽率を示した。土壤中における卵胞子発芽率は、ホウレンソウの存在にも関係するが、土壤の含水量によっても影響を受け、多湿条件下においては、乾燥条件下よりも高い発芽率を示した。土壤中における卵胞子の遊走子形成は、湿润土壤中において観察され、土壤中においても卵胞子の遊走子形成が起り得ることを証明した。

卵胞子は、土壤中において、菌糸、遊走子ならびに遊走子のうに比較し、安定して長期

間生存し、3カ月以上も発病能力を保持した。

卵胞子は、発芽過程において、その外壁に著しい変化を生じる。卵胞子の外壁は、電子顕微鏡観察では、電子密度の異なる3つの層より構成されている。発芽過程に入ると、この3つの層のうち、中層部の消失が始まり、発芽管の形成される部分で全く消失してしまうことが示された。続いて、外層部が破れ、発芽管が形成され、内層部が菌体壁となっていく。

発芽における卵胞子の微細構造の変化は、内部の中心球 (central globule) の消失と、中心空胞 (central vacuole) の出現である。その他、核、ロマゾームの出現が観察された。

休眠状態の卵胞子は、薬剤に対し抵抗性を示し、短時間の浸漬処理によっても発芽能力を保持した。しかし、発芽過程に入った卵胞子は、薬剤浸漬により活性を失った。卵胞子は、厚膜の外壁の存在により、菌糸、遊走子に比較し、薬剤に対し抵抗性を持っている。

4. 自然土壤中における放線菌による Pythium 属菌の溶菌.

土壤中には、Pythium 属菌、Phytophthora 属菌の菌体を溶解する能力のある微生物が、かなりの頻度で存在する。

これらの溶菌微生物は、土壤中において、そのみでは容易に増殖することはないが、殺菌土壌、または、Pythium 属菌菌体を添加した土壤中で増加する。そして、これら溶菌微生物の増加した土壤中において、病原菌菌糸を接種した場合、溶菌により菌糸密度が減少し、発病が減少する。これは、土壤中において、微生物間の拮抗が発病に大きな影響を及ぼしていることを示している。

謝 辞

本論文を草するに当り、懇篤な御指導と校閲とを賜った京都大学教授上山昭則先生、山本昌木先生、浅平 端先生に深甚な感謝の意を表す。また、本研究を遂行するに当り、御指導と助言を頂いた京都大学助手津田盛也先生に心からお礼申しあげる。

更に、本研究の機会を与えられた大阪府農林技術センター 抱 利夫所長、村田利男栽培部長、山田貴義栽培部主任研究員、田中 寛栽培部主任研究員、照内正男能勢農場長に、感謝の意を表す。

また、本研究に当り、病原菌の分譲ならびに文献などを御教示いただいた大阪府立大学の - 谷多喜郎先生、終始助言を頂いた大阪府農林技術センター 嘉儀 隆研究員ならびに各位に衷心より感謝の意を表す。

引用文献

1. Adams, P.B. (1971). *Phytopathology* 61 : 1149-1150.
2. Agnihotri, V.P. and Vaataja, O. (1967). *Phytopathology* 57 : 1116-1120.
3. Agrios, G.N. (1969). *Plant Pathology*. Academic Press, New York and London.
4. 赤井重恭・桂 琦一 (1974). 植物病学
実験) -卜 pp. 151-152. 養賢堂・東京.
5. 新本正義・宮田善雄・正子 翔 (1978).
日植病報 44 : 405.
6. Ayer, W.A. and Lumsden, R.D. (1975). *Phytopathology* 65 : 1094-1100.
7. Baker, K.F. and Cook, R.J. (1974). *Biological control of plant pathogens*. W.H. Freeman Company, San Francisco, U.S.A. pp. 159-161.
8. Barton, R. (1957). *Nature* 180 : 613-614.
9. Barton, R. (1961). *Trans. Brit. mycol. Soc.* 44 : 105-118.
10. Bateman, D.F. and Dimock, A.W. (1959). *Phytopathology* 49 : 641-647.
11. Bhalla, H.S. (1968). *Phytopathology* 58 : 1043.

12. Biesbrock, J.A. and Hendrix jr., F.F. (1970)
Phytopathology 60 : 880-882.
13. Brown, G.E. and Kennedy, B.W. (1966). Phytopathology^t_X
56 : 407-411.
14. Carson, R.L. (1962). " Silent spring " Fawcett Publication
Inc., Greenwich, Conn.
15. Child, J.J. and Haskins, R.H. (1971). Can. J. Bot.
49 : 392-332.
16. Colhoun, J. (1953). Ann. Appl. Biol. 40 : 262-283.
17. Colhoun, J. (1973). Ann. Rev. Phytopath. 11 : 342-364.
18. Chonen, Y., Reuveni, M. and Eyal, H. (1979).
Phytopathology 69 : 645-649.
19. 出水忠夫 (1965) 大阪農業 3 : 40-43.
20. Dick, M.W. (1966). Trans. Brit. mycol. Soc. 42 : 257-282.
21. Dobbs, G.G. and Hinson, W.H. (1953). Nature 172 : 197-199.
22. Domsch, K.H. (1958). Plant soil 10 : 114-131.
23. Drechsler, C. (1947). Phytopathology 37 : 438-439.
24. Drechsler, C. (1952). Bull. Torrey Bot. Club, 79 :
431-450.
25. Drechsler, C. (1956). Bull. Torrey Bot. Club 83 :
196-206.

26. Edgington, L.V. et. al. (1980). Plant Disease 64 : 19-23.
27. Escobar, C. et.al. (1967). Phytopathology 57 : 1149-1157.
28. Flowers, R.A. and Littrell, R.H. (1972). Phytopathology 62 : 752.
29. Fukutomi, M., Akai, S. and Shiraishi, M. (1971). Mycopathologia and Mycologia Applicata 43 : 249-258.
30. 福井勝義 (1974). 焼畑のむら pp.7-12.
朝日新聞社・東京.
31. 福西 務 (1978). 日植病報 44 : 86.
32. Garrett, S.D. (1970). Pathogenic root-infecting fungi. Cambridge University Press, London and New York, U.S.A.
33. Gäumann, E.A. (1964). Die Pilze, Birkhauser, Bas., 1949
2nd ed.
34. Haskins, R.H., et.al. (1976). Can. J. Bot. 54 : 2193-2203.
35. 八田茂徳・草刈真一・津田盛也・
上山昭則 (1975) 日植病報 41 : 272.
36. Hemmes, D.E. and Bartunicki-Garcia, S. (1975). Arch Microbiol. 103 : 91-112.
37. Hemmes, D.E. and Ribeiro, O.K. (1977). Can. J. Bot. 55 : 436-447.

38. Hendrix, J.W. (1965). *Phytopathology* 55 : 790-797.
39. Hendrix, F.F. and Campbell, W.A. (1973). *Ann. Rev. Phytopath.* 11 : 77-98.
40. Hendrix, F.F. and Campbell, W.A. (1974). *Mycologia* 66 : 681-684.
41. Hendrix, F.F. and Papa, K.E. (1974). *Proc. Amer. Phytopath. Soc.* 1 : 200-207.
42. Hickman, C.J. (1970). *Phytopathology* 60 : 1128-1135.
43. Hickman, C.J. (1966). *Ann. Rev. Phytopath.* 4 : 195-220.
44. Hoch, H.C., Hagedorn, D.J. and Pinnow, D.J. (1975). *Plant Dis. Rep.* 59 : 443-447.
45. Hoch, H.C. and Mitchell, J.E. (1970). *Phytopathology* 60 : 1296.
46. Hoch, H.C. and Mitchell, J.E. (1973). *Can. J. Bot.* 51 : 413-420.
47. Hoppe, P.E. (1966). *Phytopathology* 56 : 1411.
48. Ho, Y.C. (1970). *Can. J. Bot.* 48 : 1501-1514.
49. 神納 淨 (1966) 農業及園芸 41 : 1119-1120.
50. Johnson, T.W., (1968). *Saprobic Marine Fungi, The fungi* 3 pp. 95-104, ed. by Ainsworth, G.C. and Sussman, A.S. Academic Press, New York and London.

51. Jones, L.R. (1924). Amer. J. Bot. 11 : 601-609.
52. 加藤喜重郎・中神喜郎・元田耕作 (1974)
関西病虫研報 16 : 26.
53. Kerr, A. (1964). Australian J. Biol. Sci. 17 : 676-685.
54. Klotz, L.J., Wong, P.P. and DeWolfe, T.A. (1959).
Plant Dis. Rep. 43 : 830-832.
55. 駒田 且 (1976). 東海近畿農試報告 29 : 132-269.
56. Ko, W.H. and Lockwood, J.L. (1966). Phytopathology
56 : 885.
57. Ko, W.H. and Lockwood, J.L. (1967). Phytopathology
57 : 894-910.
58. Kraft, J.M., Endo, R.M. and Erwin, D.C. (1967).
Phytopathology 57 : 86-90.
59. 国永史郎・久保庭孝・寺中理明
若井田正義 (1975). 日植病報 41 : 118.
60. 草刈真一 (1973). 日植病報 39 : 197.
61. 草刈真一 (1980). 未発表
62. 草刈真一・八田茂徳・津田盛也
上山昭則 (1975). 農業及園芸 50 : 1525-1526.
63. Kusakari, S. and Takagi, Y. (1973). Can. J. Microbiol.
19 : 1333-1334.

64. 草刈真一・田中 寛 (1978). 日植病報 44: 86-87.
65. 草刈真一・田中 寛 (1979). 日植病報 45: 530.
66. 草刈真一・田中 寛・山田貴義 (1978).
農業及園芸 53: 1053-1054.
67. 草刈真一・田中 寛・山田貴義 (1979).
関西病虫研報 21: 47.
68. 草刈真一・田中 寛 (1980).
関西病虫研報 22 (投稿中).
69. 草刈真一・辻 博美・山田貴義
田中 寛 (1979). 日植病報 45: 268-271.
70. 草刈真一・山田貴義・田中 寛 (1978).
日植病報 44: 369.
71. 草刈真一・山田貴義・辻 博美
田中 寛 (1979). 日植病報 45: 107.
72. 草刈真一・上山昭則 (1974).
日植病報 40: 192.
73. 草刈真一・上山昭則 (1975).
日菌報 16: 55-62.
74. 草刈真一・上山昭則 (1975).
日菌報 16: 63-68.

75. Lingappa, B.T. and Lockwood, J.L. (1961).
J. Gen. Microbiol. 26 : 473-485.
76. Lockwood, J.L. (1964). Ann. Rev. Phytopath. 2 : 341-362.
77. Lumsden, R.D. and Ayer, W.A. (1975). Phytopathology
65 : 1101-1107.
78. Lumsden, R.D., et.al. (1976). Phytopathology 66 :
1203-1209.
79. Luna, L.V. and Hine, R.B. (1964). Phytopathology
54 : 955-959.
80. Mass, J.L. (1976). Mycologia 68 : 511-522.
81. MacWithey, H.S. (1965). Phytopathology 55 : 1066.
82. Marchant, R. (1968). New Phytol. 67 : 167-171.
83. Masago, M. et. al. (1977). Phytopathology 67 : 462-428.
84. McIntosh, D.L. (1966). Can. J. Bot. 44 : 1591-1599.
85. Mellano, H.M., Munnecke, D.E. and Endo, R.M. (1970).
Phytopathology 60 : 935-942.
86. Middleton, J.T. (1943). Mem. Torrey Bot. Club, 20 :
1-171.
87. Mitchell, D.J. (1975). Phytopathology 65 : 570-575.
88. Mitchell, D.J. (1978). Phytopathology 68 : 1754-1759.
89. Mitchell, R. (1963). Phytopathology 53:1068-1071.

90. 宮田善雄 ら. (1972)
京府大学術報告 農学 24 : 27-35.
91. 宮田善雄・長田龍太郎・正子 朔
(1977). 日植病報 43 : 338.
92. 宮田善雄・長田龍太郎・正子 朔
(1977). 京府大学術報告 農学 29 : 30-37.
93. 森田 儔 (1967).
静岡農試報告 12 : 97-103.
94. 長江春季 (1974).
農業及園芸 49 : 1374-1378.
95. Naiki, T. and Kano, M. (1977). Ann. Phytopath. Soc. Jap.
43 : 297-300.
96. 内記 隆・加納正和 (1978). 日植病報 44 : 366.
97. 内記 隆・加納正和 (1978).
日植病報 44 : 543-553.
98. 中尾佐助 (1966). 栽培植物と農耕の
起源, 岩波書店, 東京.
99. 西村十郎・神納 淨 (1969).
植物防疫 23 : 513-516.
100. 小田桂三郎 ら (1972). 耕地の生態学, 築地書館, 東京.

101. 小倉寛豊 (1979). 工と微生物 21 :
11-18.
102. 奥田純一郎・石田力 (1964). 日植病報 29:89.
103. 大石親男 (1972).
石川農短研報 1 : 17-27.
104. Papavizas, G.C., et. al. (1977). *Phytopathology*
67 : 1293-1299.
105. Park, D. (1970). Ecology of soil-borne plant pathogens,
Prelude to biological control. pp. 82-98. Ed. by Baker, K.F.
and Snyder, W.C., University of California Press, Berkeley,
Los Angeles and London.
106. Park, D. (1972). *Trans. Brit. mycol. Soc.* 58 : 291-299.
107. Perkinson, D. and Kendrick, W.B. (1960). The ecology of
soil fungi. pp. 22-28. Ed by Perkinson, D. and Waid, J.S.
Liverpool University Press.
108. Pieczarka, D.J. and Abawi, G.S. (1978). *Phytopathology*
68 : 766-772.
109. Pirozynski, K.A. (1968). *The Fungi* vol. 3 pp.487-504.
Ed. by Ainsworth, G.C. and Sussman, A.S. Academic Press,
New York and London.
110. Potgieter, H.J. and Alexander, M. (1966).
J. Bacteriol. 91 : 1526-1532.
111. Rai, P.V. and Strobel, G.A. (1966). *Phytopathology*
56 : 1365-1369.

112. Romero, S. and Gallegly, M.E. (1963). *Phytopathology* 53 : 899-903.
113. Royle, D.J. and Hickman, C.J. (1964). *Can. J. Microbiol.* 10 : 151-162.
114. Ruben, D.W. and Stanghellini, M.E. (1978). *Amer. J. Bot.* 65 : 491-501.
115. Schmitthenner, A.F. (1970). Root diseases and soil-borne pathogens, Ed. by Toussoun, T.A., Bega, R.V. and Nelson, P.E. pp. 25-27. University of California Press.
116. Schmitthenner, A.F. (1972). *Phytopathology* 62 : 788.
117. Skujins, J.J., Potgieter, H.J. and Alexander, M. (1965). *Arch. Biochem. Biophys.* 111 : 358-364.
118. Sparrow, F.K. (1960). *Aquatic Phycomycetes*, University of Michigan Press, Ann Arbor.
119. Sparrow, F.K. (1968). *The Fungi* vol. 3 pp. 41-94. Ed. by Ainsworth, G.C. and Sussman, A.S., Academic Press, New York and London.
120. Spencer, J.A. and Cooper, W.E. (1967). *Phytopathology* 57 : 1322-1338.
121. Stanghellini, M.E. (1972). *Phytopathology* 63 : 791.
122. Stanghellini, M.E. (1974). *Proc. Amer. Phytopath. Soc.* 1 : 211-214.

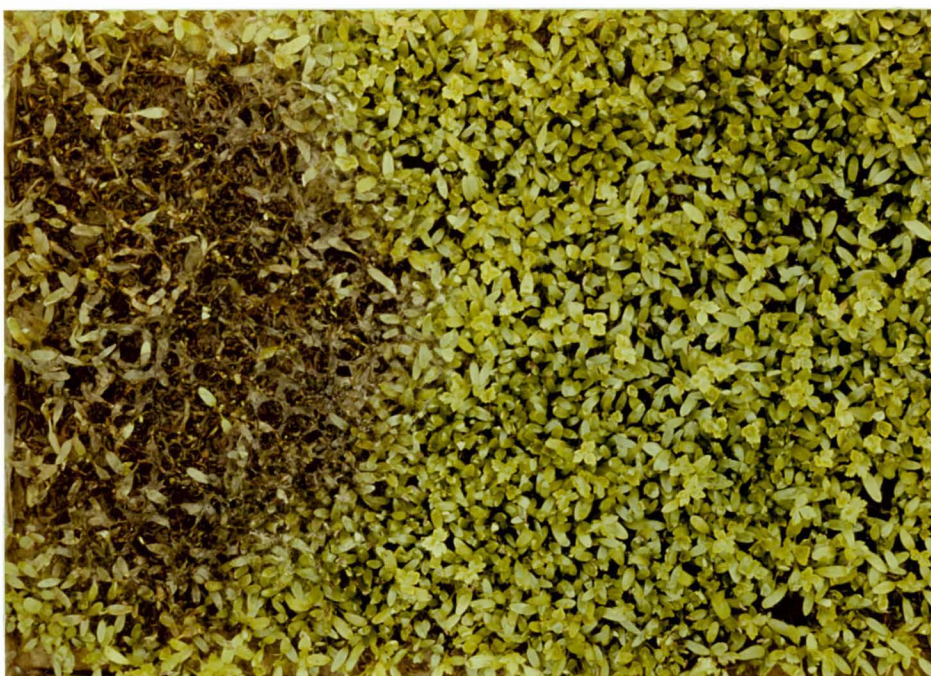
123. Stanghellini, M.E. and Burr, T.J. (1973).
Phytopathology 63 : 1493-1498.
124. Stanghellini, M.E. and Hancock, J.G. (1970).
Phytopathology 60 : 551-552.
125. Stanghellini, M.E. and Hancock, J.G. (1971).
Phytopathology 61 ; 157-164.
126. Stanghellini, M.E. and Nigh, E.L. (1972). Plant Dis.
Rep. 56 : 507-510.
127. Stanghellini, M.E. and Russell, J.D. (1973).
Phytopathology 63 : 133-137.
128. Sussman, A.S. (1968). The Fungi vol. 3 pp. 461
Ed. by Ainsworth, G.C. and Sussman, A.S., Academic Press,
New York and London.
129. Sussman, A.S. (1970). Ecology of soil-borne plant
pathogens pp.99-109, ed. by Baker, K.F. and Snyder, W.C.,
University of California Press, Berkeley, Los Angeles
and London.
130. 鈴木春夫・森 喜作 (1968).
静岡農試報告 13 : 30-50 .
131. Suzuki, S. (1961). Bot. Mag. (Tokyo). 74 : 313-320.
132. Takahashi, M. (1952). Ann. Phytopath. Soc. Japan
16 : 19-22.

133. 高橋 実ら (1973). じごくふれ等のりの病因
解明に関する研究, 農林水産技術会議事務局. 研究成集69 pp.30-54.
134. 高木康至・福原俊夫・池田政文 (1976).
生物環境調節 14: 15-19.
135. 高木康至・草刈真一・金岡四郎 (1974).
Radioisotops 23: 52-53.
136. Talbot, P.H.B. (1971). Principles of fungal taxonomy,
The Macmillan Press, London and Basingtoke.
137. 高辻正基 (1978). 植物工場,
講談社・東京.
138. 寺川博典 (1978). 菌類の系統進化,
東大出版会・東京.
139. Thomson, S.V. and Allen, R.M. (1976). Phytopathology
66: 1198-1202.
140. 遠山 明・草葉敏彦 (1967).
中国農業研究 36:46-48.
141. Trujillo, E.E. and Hine, R.B. (1965). Phytopathology
55: 1293-1298.
142. 上山春平 (1969). 照葉樹林文化
中央公論社, 東京.

143. Vujicic, R. (1971). Trans. Br. mycol. Soc. 57 : 525-530.
144. Watson, A.G. and Ford, E.J. (1972). Ann. Rev. Phytopath. 10 : 327-348.
145. Waterhouse, G.M. (1967). Mycological Papers, No. 109.
146. Wensley, R.N. (1953). Can. J. Bot. 31 : 277-307.
147. 山本 繁 子 (1968).
高知県農技研報告 1 : 39-49.
148. 山本 繁 子 (1973).
高知県農技研報告 5 : 25-40.
149. Yanagita, T. and Yamagishi, S, (1958). Appl. Microbiol. 6 : 375-381.



1



2

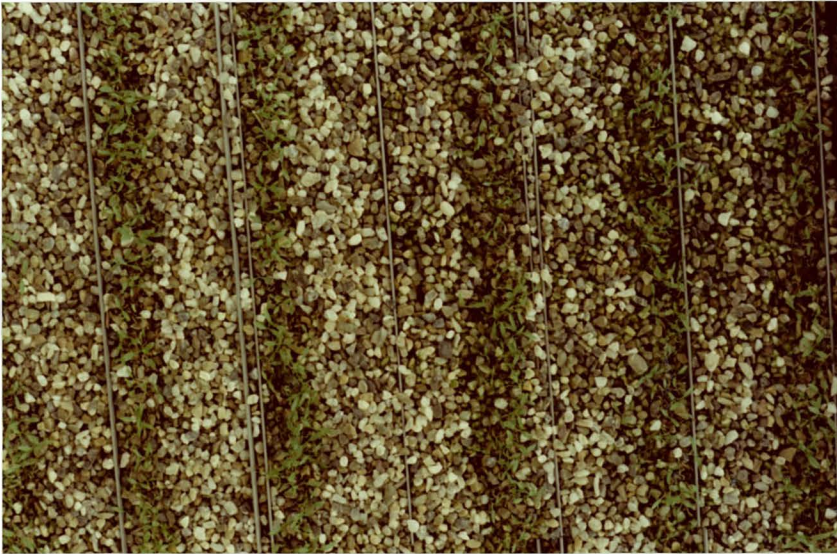
図版-1. 水耕栽培における Pythium imperfectum によるミツバ立枯病の発生状態.

1. レキ式の水耕装置での立枯病の発生.
2. ウレタン式育苗床で発生した立枯病.
発生部位より円型に広がっていくのが特徴

1



2



3



図版-2.

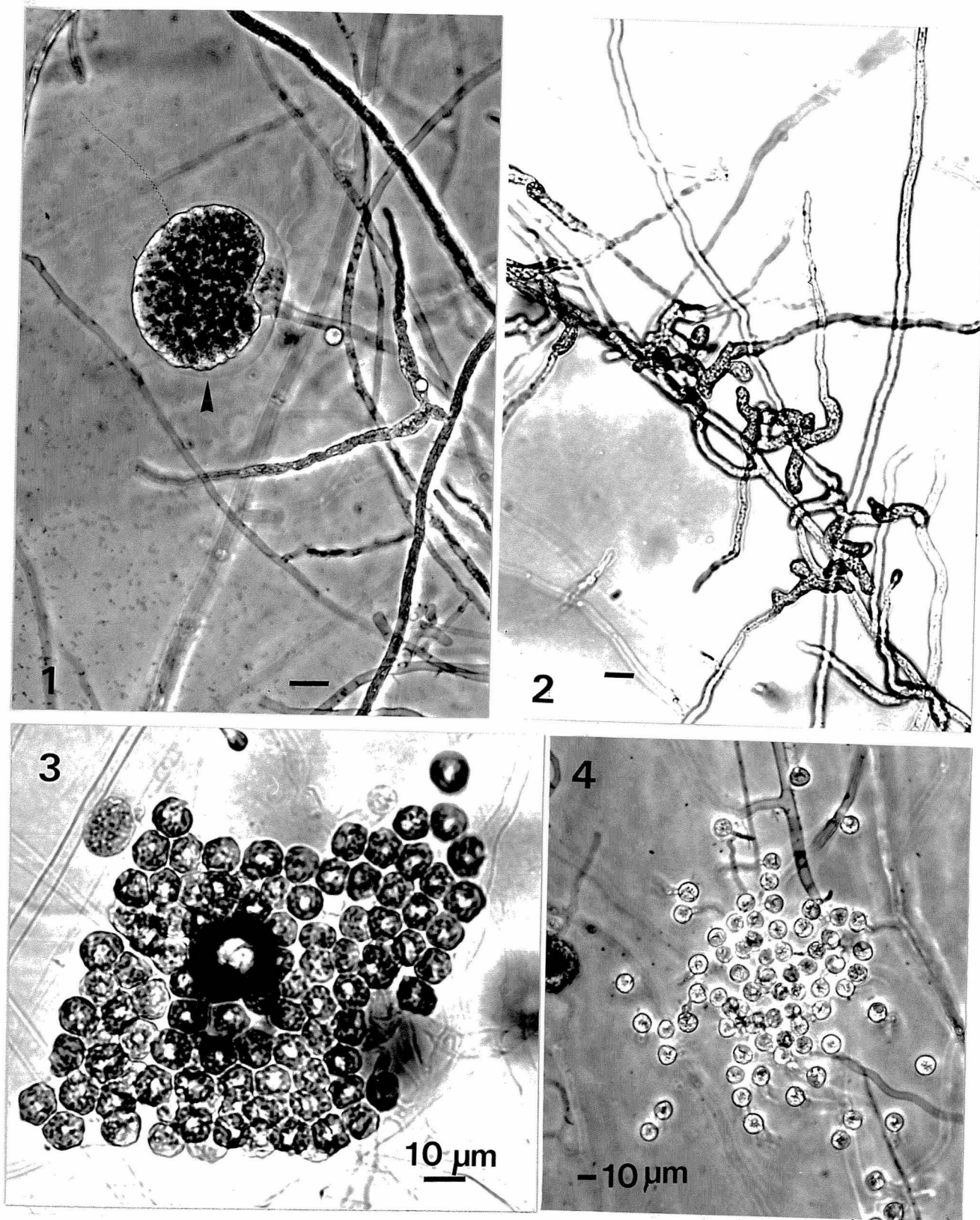
Pythium 属菌による水耕ミツバの立枯病.

1. 立枯のため子苗のほとんど消失した水耕装置.
2. 発芽の健全な例.
3. 感染初期のミツバの根
右側の根の白いものは健全個体. 左側の感染した
ミツバの根は褐変している.



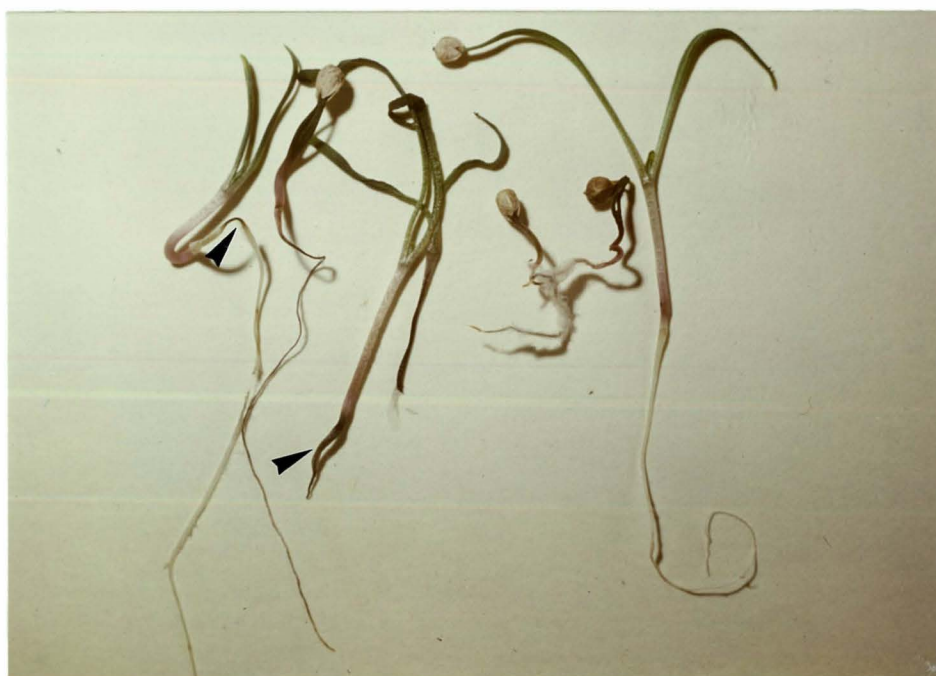
- 図版-3. Pythium 属菌による水耕ミツバの立枯病.
1. M式(ウレタン式)水耕装置での発生例.
 2. レキ式の水耕装置での発生例.

根を喰われ地上部が萎凋枯死する.



図版-4. ミツバエ枯病菌 Pythium imperfectum の形態. (スケールは10 μ m)

1. 糸状の遊走子のうから形成された球のう(矢印)
2. 菌糸の所々に形成された不整形の器官
これらの器官はやがて発芽し菌糸となる。
3. 1球のうから形成された遊走子。
4. 被のうし発芽する遊走子。



図版-5

Pythium 属菌によるホウレンソウの枯病.

1. 育苗床で発生した例.
2. 子苗の病徴.
根の黒変(矢印)とくびれ(矢印)に注意.



1



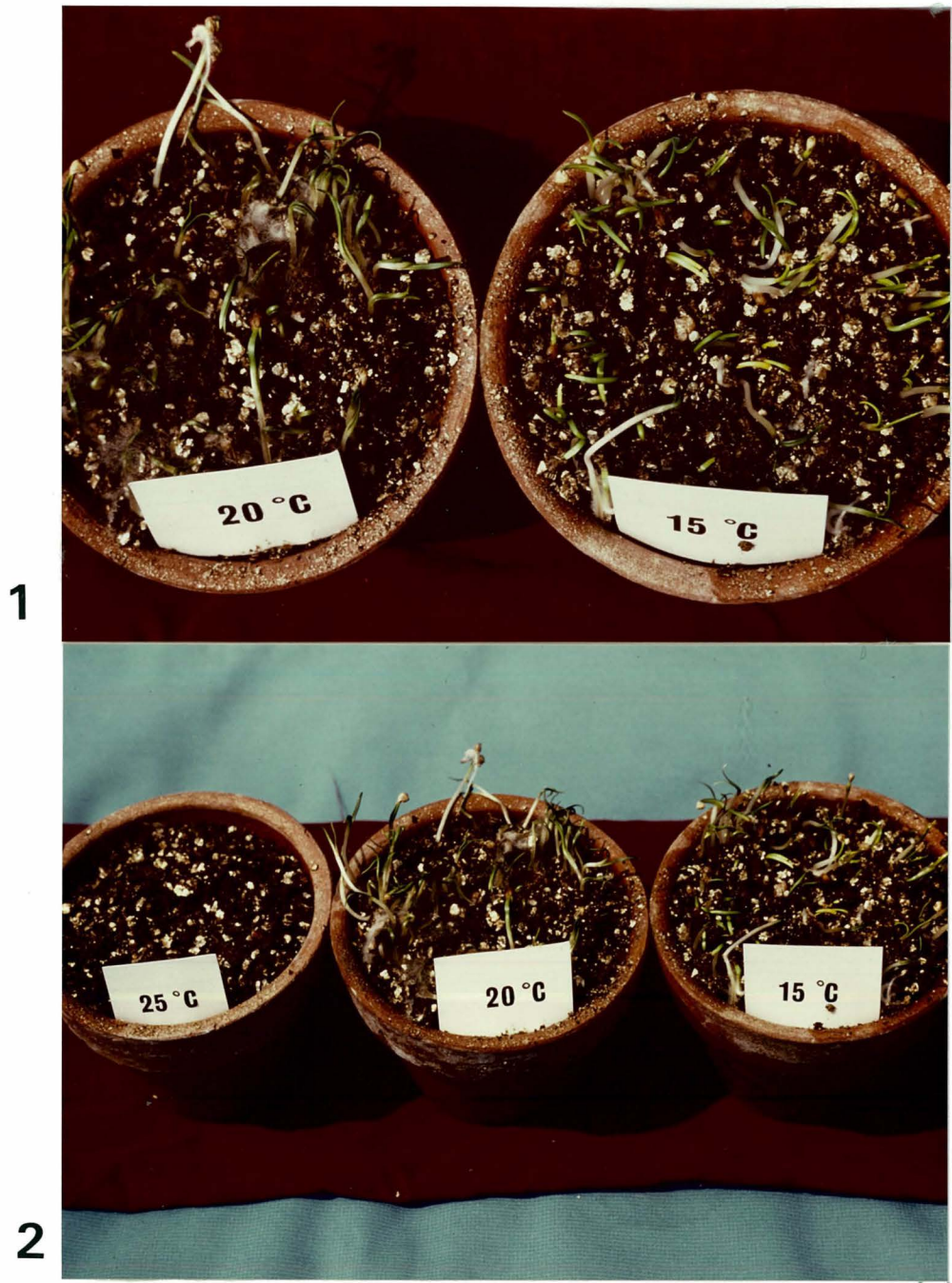
2

図版 . 6 土耕栽培において発生するミツバ立枯病と、
ホウレンソウ立枯病。

2. Rhizoctonia solani によるミツバ立枯病。

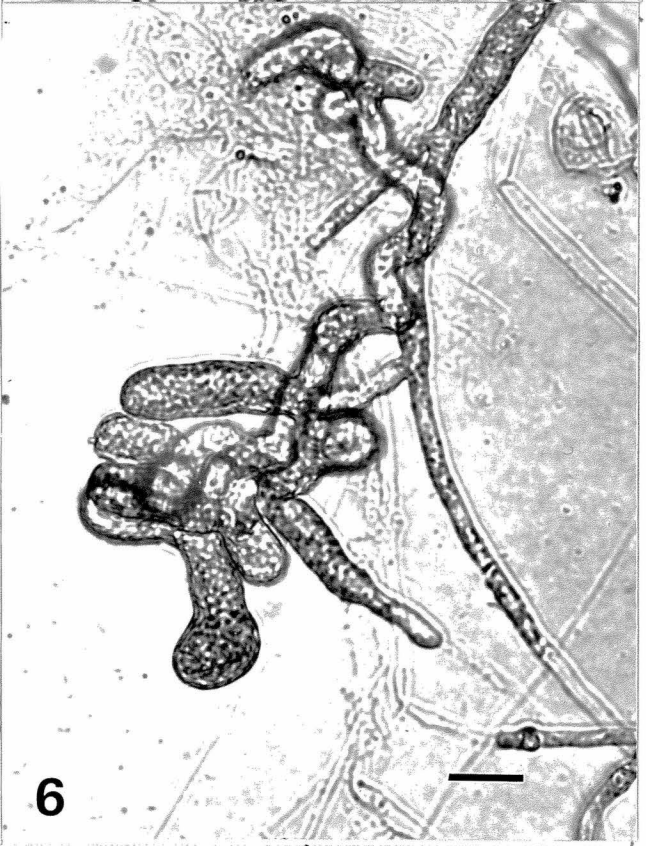
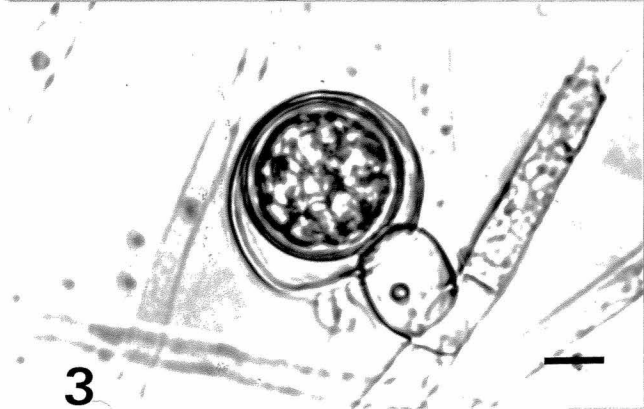
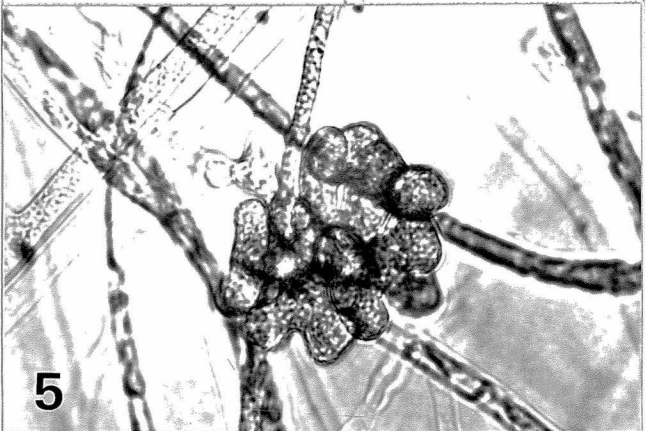
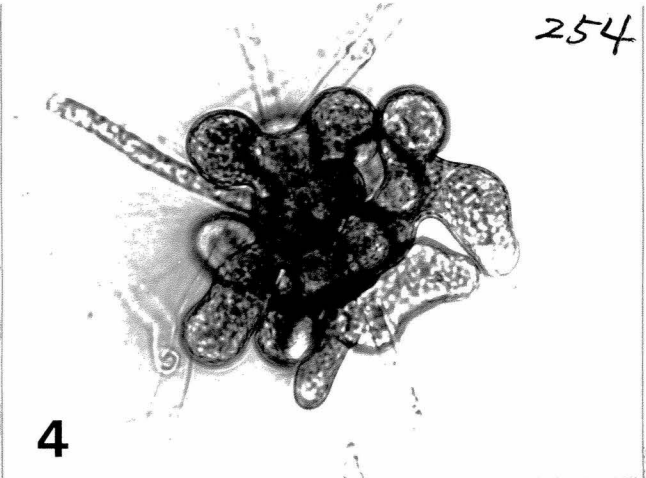
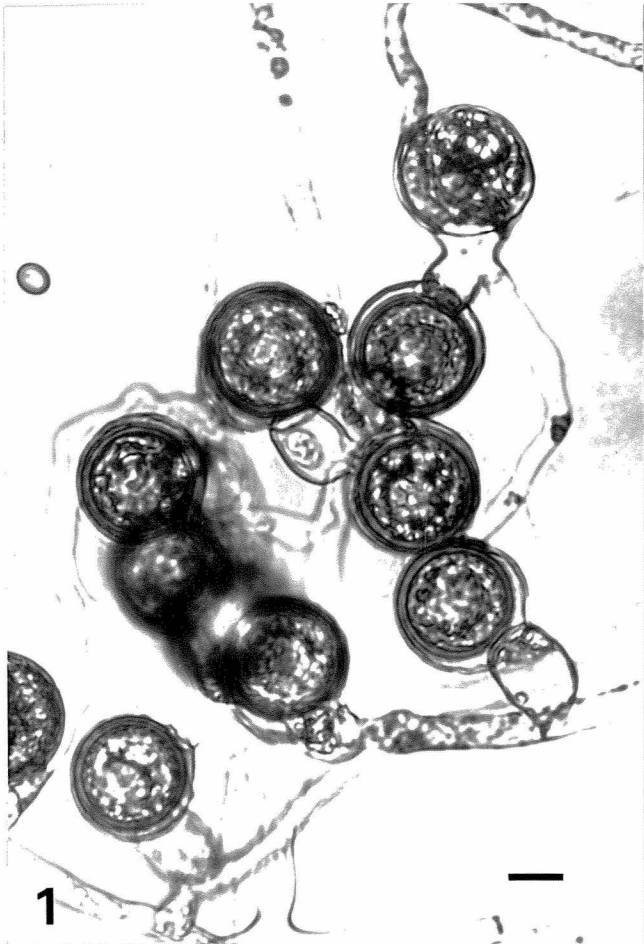
1. Pythium 属菌によるホウレンソウの立枯病

葉の黄化と地上部の萎凋枯死症状を示す。
成熟した株での萎凋枯死症状のみからは、
Fusarium spp. が分離されるがこの場合、導
管に褐変を認める。



四版-7 各温度条件下におけるホウレンソウ立枯病発生状況.

1. 20°C, 15°C の発生状況.
20°Cでは立枯と気中菌糸の発生を認める.
2. 25°C, 20°C, 15°C の発病状態.



3

6

図版-8

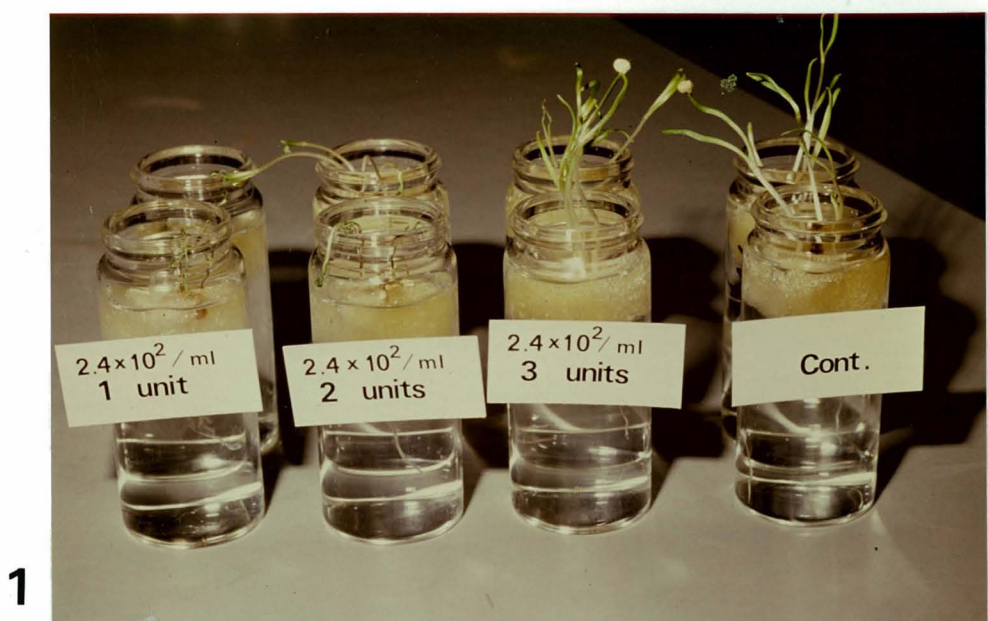
ホウレンソウ立枯病菌 *Pythium butleri* の形態。スケールは 10 μ m を示す。

- 1. 培地上に形成された卵胞子。
- 2. 卵胞子に付着したつり鐘型の造精器。
- 3. 卵胞子に付着したたぶ型(たぶ型)の造精器。
- 4~6. 分岐の複雑な遊走子のう。

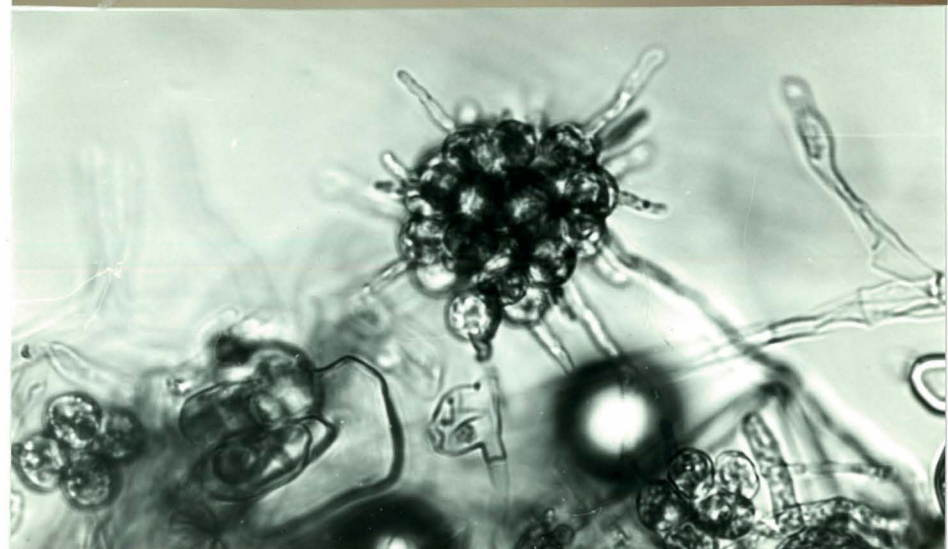


図版-9. 水耕栽培のミツバにみられる Pythium 属菌, Rhizoctonia solani 以外の菌による病害.

1. 菌核病菌 (Sclerotinia sclerotiorum) の立枯症状, 綿のような菌糸が生じる.
2. Thraustotheca clavata による発芽障害. 水生菌で, 4月頃 ~ 7月にかけて多発する.
3. 2の拡大写真, 菌糸は太く, 綿のように見える.



1



2



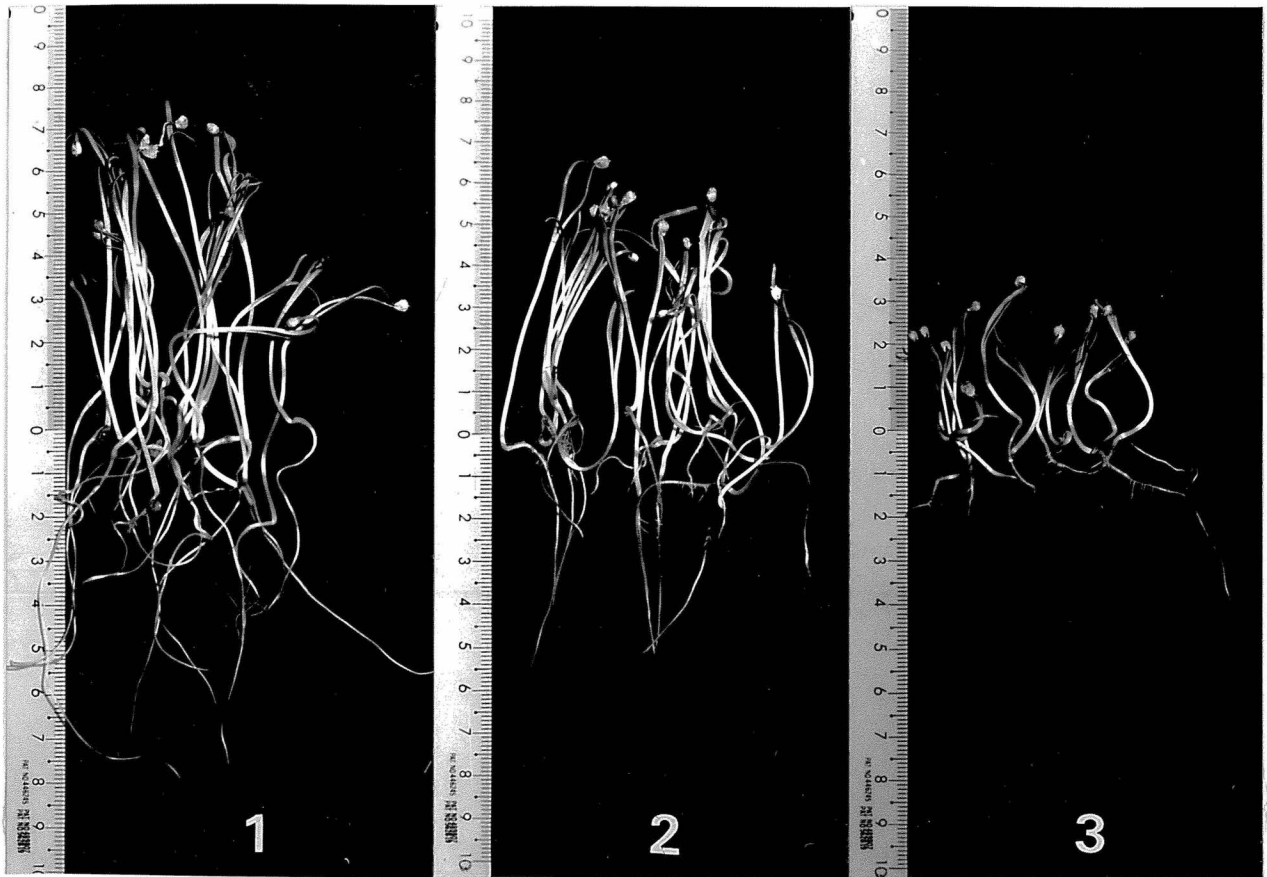
3

図版-10. 高濃度水耕養液中におけるホウレンソウ立枯病発生抑制と遊走子形成の異常.

1. ホウレンソウ立枯病菌遊走子接種による高濃度水耕養液中での発病抑制.
2. 高濃度水耕養液中での遊走子形成の抑制
3. 2と同様, 球のう内には遊走子が分化しないもの,



- 図版-11 パンソイルによるミツバの根の障害
1. 28°Cの養液温度のとき認められる根の褐変, パンソイル 50 ppmでは著しい症状となっている。
 2. 15°Cの養液温度のときの障害。
30 ppm以下ではほとんど障害がない。



図版-12 ホウレンソウの水耕栽培におけるパンソイルの添加と障害.

1. 対照 パンソイル無添加
2. パンソイル 30 ppm. 添加
3. パンソイル 100 ppm. 添加

濃度上昇に伴って生育, (草丈と根の伸長) が悪くなっている。



①



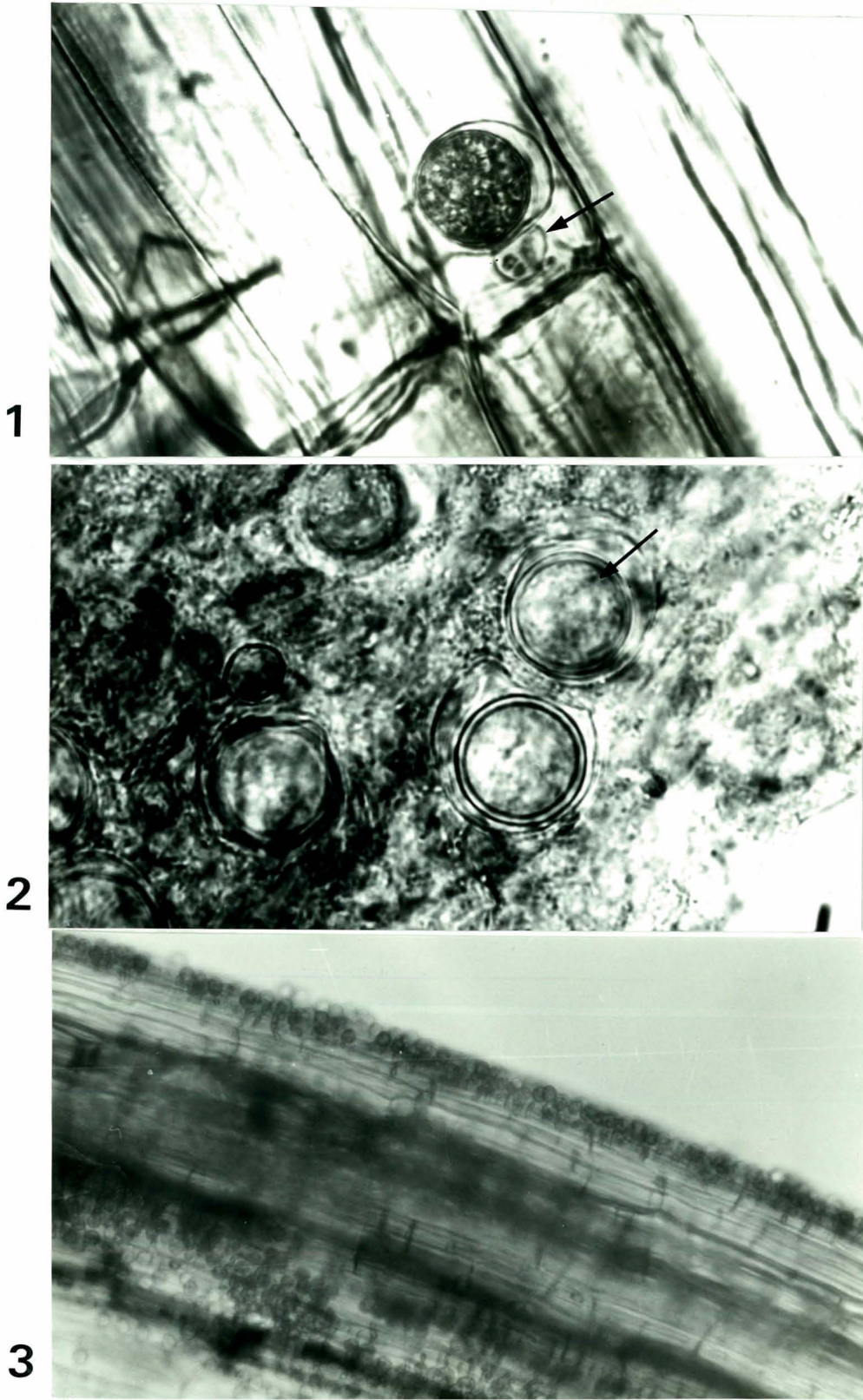
図版 13 浸透移行殺菌剤Ridomil による ホウレンソウ
の枯病抑制効果.

1. 種子浸漬処理による病害防除効果.
左より. 対照(病原菌無接種), Ridomil 処理,
オソサイド処理, 無処理区,
2. Ridomil の濃度と防除効果.
2 mg/ml (製剤濃度) で良い結果が得られ
た。



図版-14 Ridomil によるそ菜種子の障害.

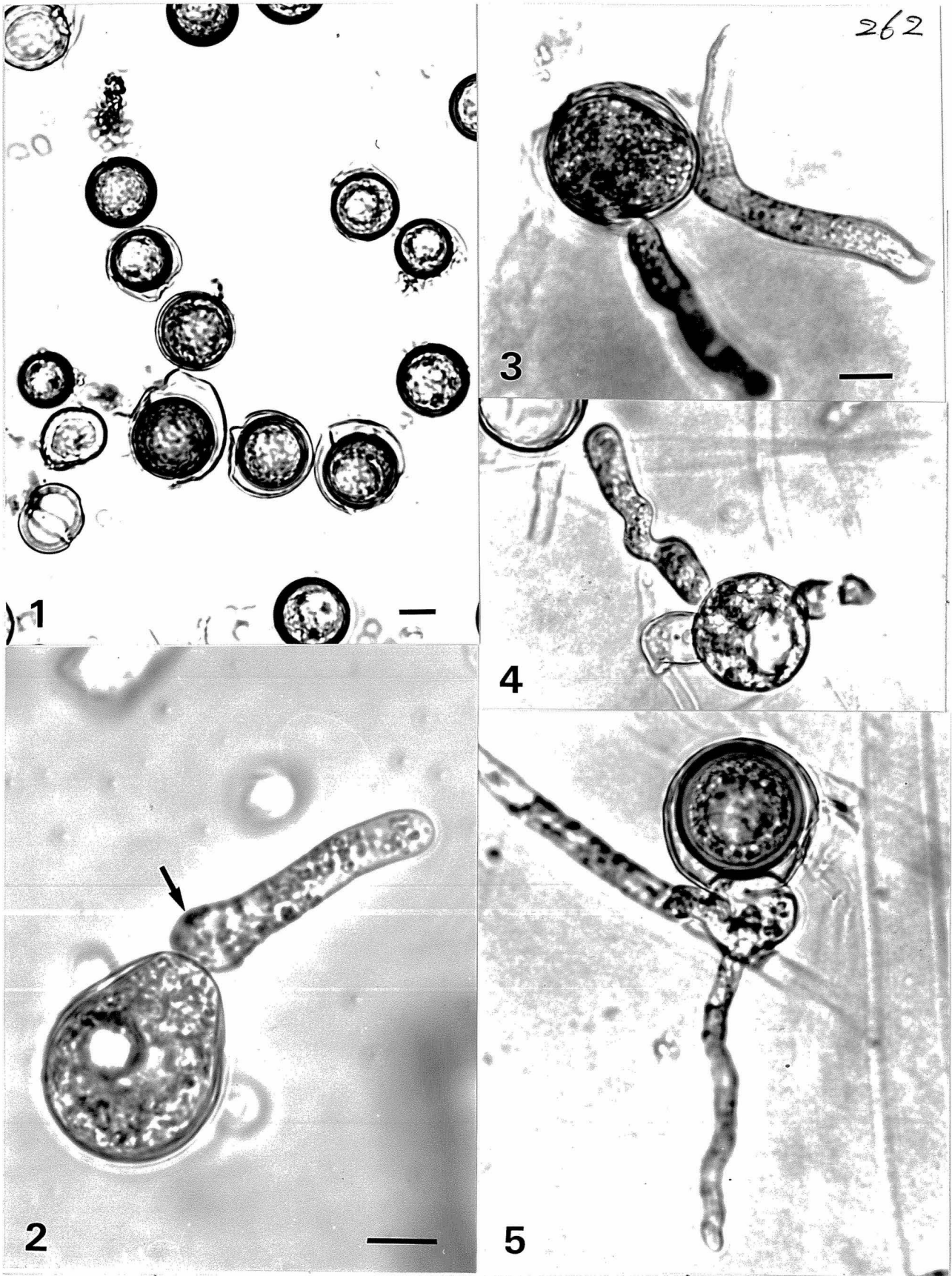
1. ホウレンソウ催芽種子浸漬処理と障害.
2000 ppm 1 時間浸漬では障害はないが,
10000 ppm では処理時間によって障害が
出ている。
2. キウリの種子浸漬処理の効果と棄害.
浸漬時間が2 時間になると障害が認めら
れる。0.01% では病害防除効果がな
く、0.5% では障害を生じている。
0.1% 1 時間浸漬で発病抑制効果も
あり良い結果となった。



図版-15

ホウレンソウ組織内に形成された Pythium butleri の卵胞子。

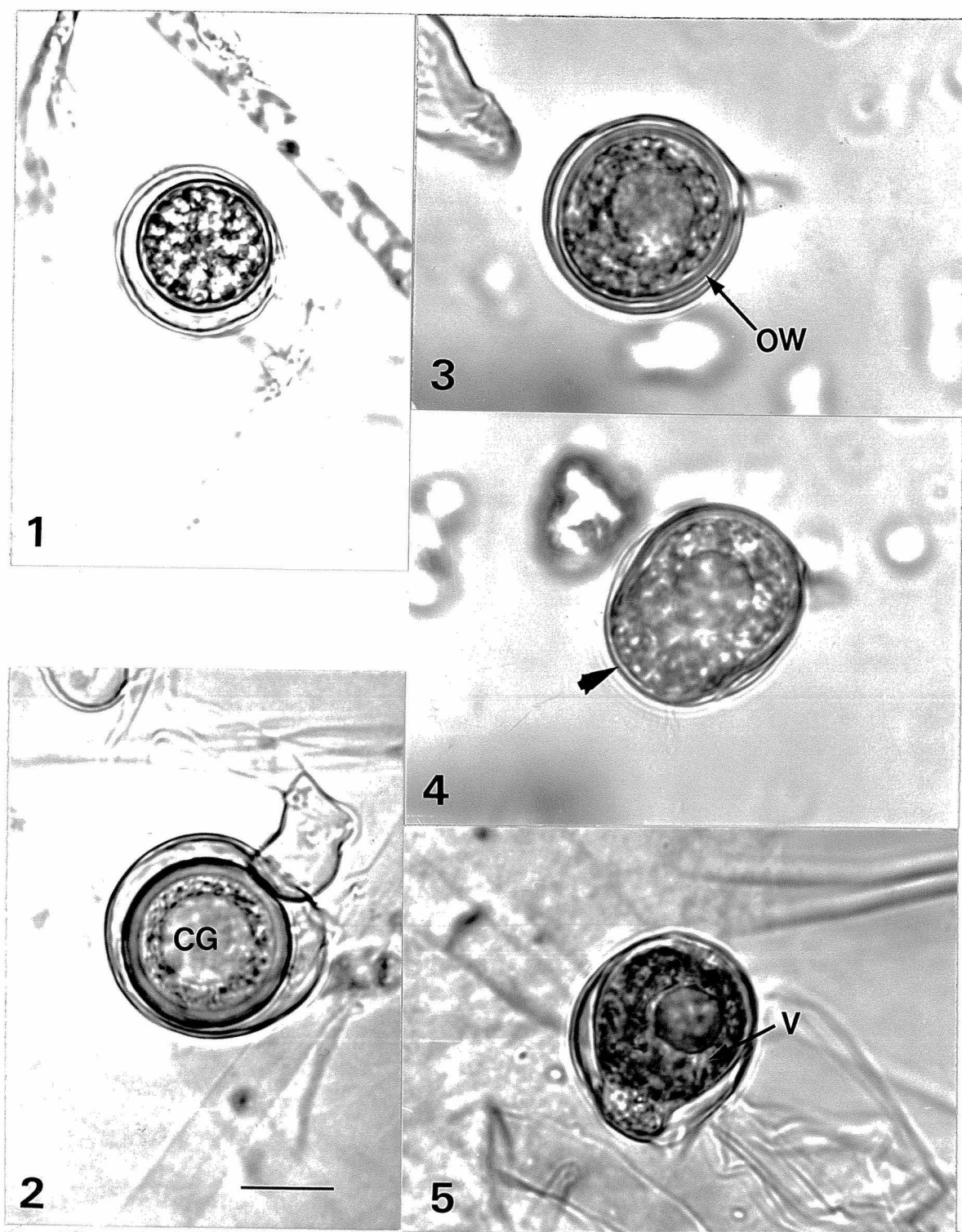
1. 30°C 48 時間後, 地際部組織内に形成された卵胞子。造精器(矢印)を認める。
2. 72 時間後の卵胞子。厚膜化(矢印)卵胞子を認める。
3. ホウレンソウ子苗の根に被のうした遊走子。



図版 - 16

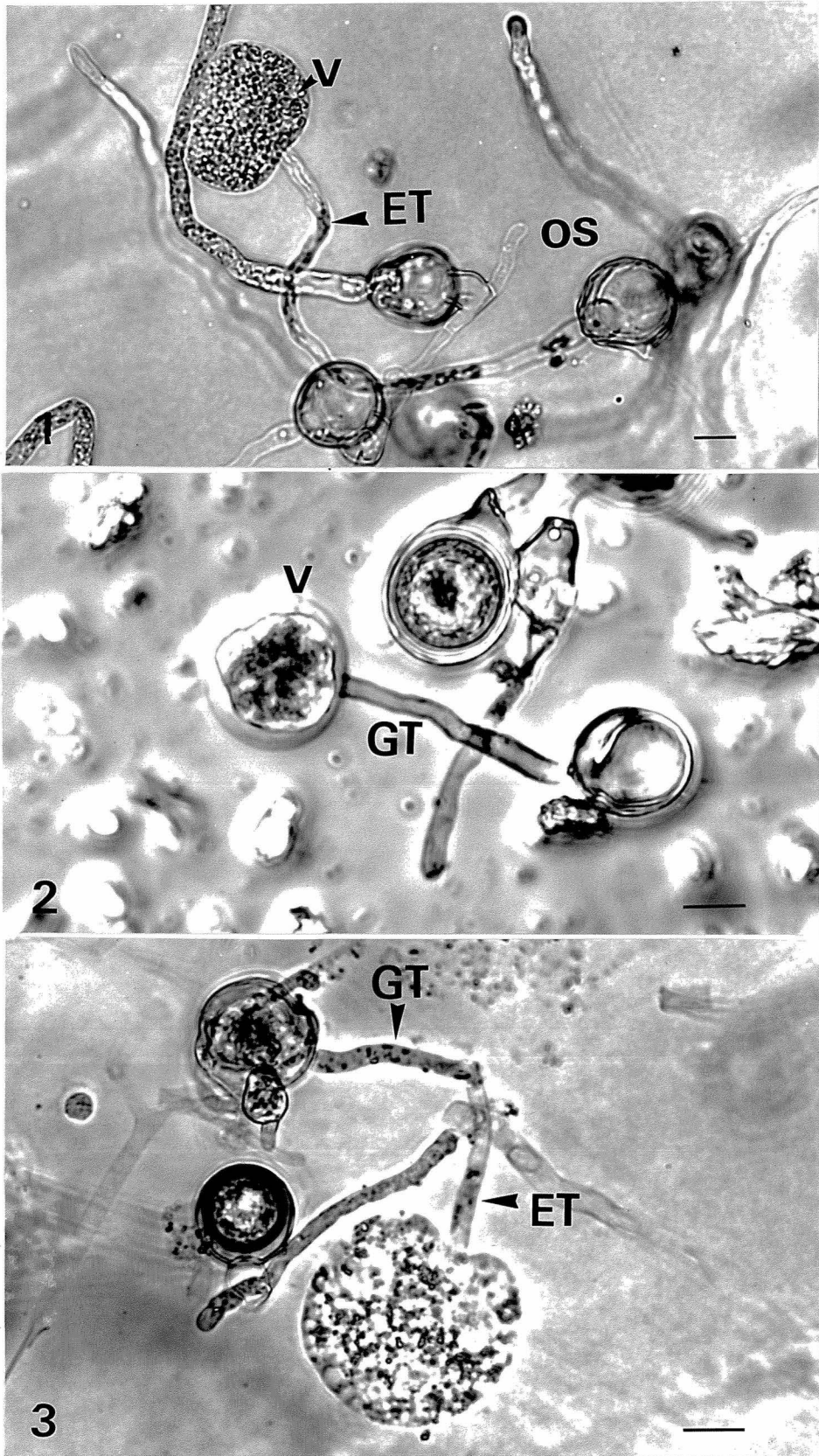
Pythium butleri 卵胞子の発芽状態. (スケールは 10 μ m)

1. 培地より遊離された卵胞子 (菌糸の混入はない).
2. 典型的な卵胞子発芽, 発芽管基部のふくらみ (矢印) に注意.
- 3, 4. 2本の発芽管を生じたもの.
5. 卵胞子発芽ではなく造精器の原形質から生じた.



図版-17 *Pythium butleri* の卵胞子の発芽過程.

1. 培地上に形成された未熟な卵胞子.
2. かなり成熟した卵胞子, 中心部にCentral reserve globule (CG)が認められ, 外壁は厚膜化している. (スケールは 20 μ m)
3. 発芽の始まった卵胞子, 外壁(OW)が薄くなっている.
4. 発芽管形成初期, (矢印は発芽管)
5. 造卵器内で発芽管を生じた卵胞子. CGの周辺に空胞(遊生している)が生じている(矢印).

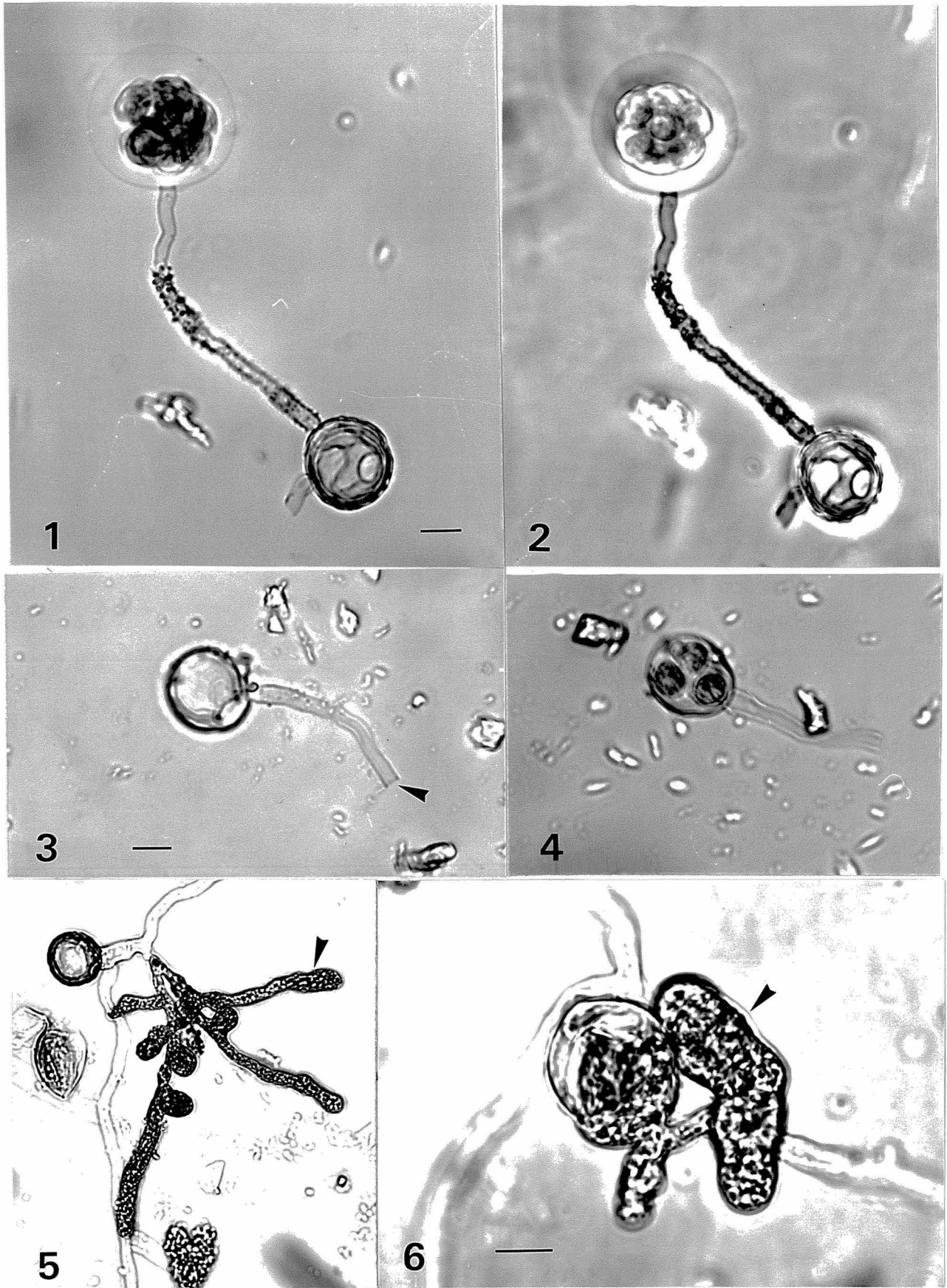


図版-18

Pythium butleri 卵胞子の遊走子発芽形態.

1. 卵胞子より直接溢水管(矢印・ET)を生じ、球のう(矢印V)を形成したもの。OSは卵胞子。
2. 発芽管(GT)の先端に球のう(V)を形成したもの。
3. 発芽管(GT)より溢水管(ET)を生じたもの。

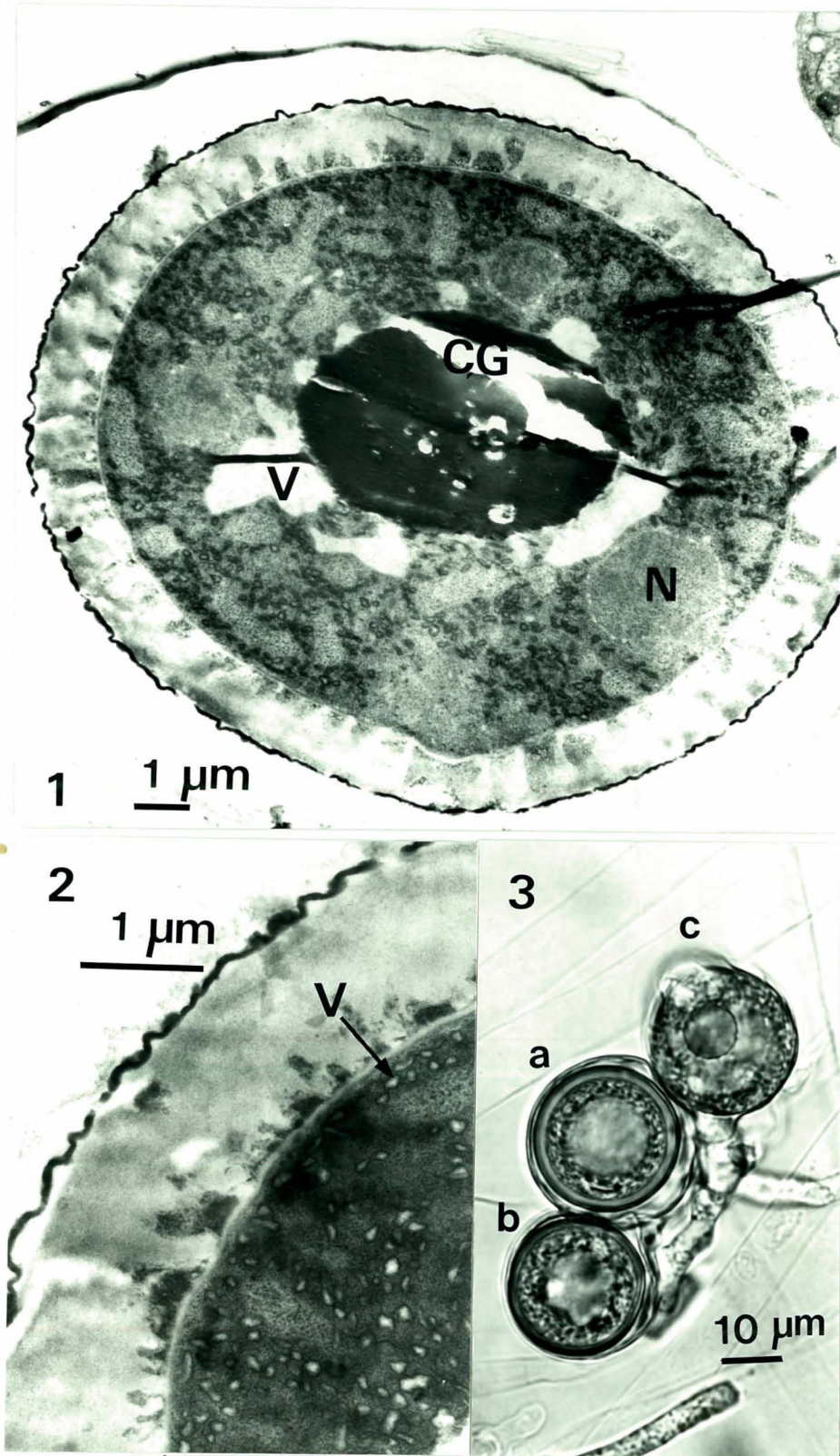
スケールは 10μm



図版-19

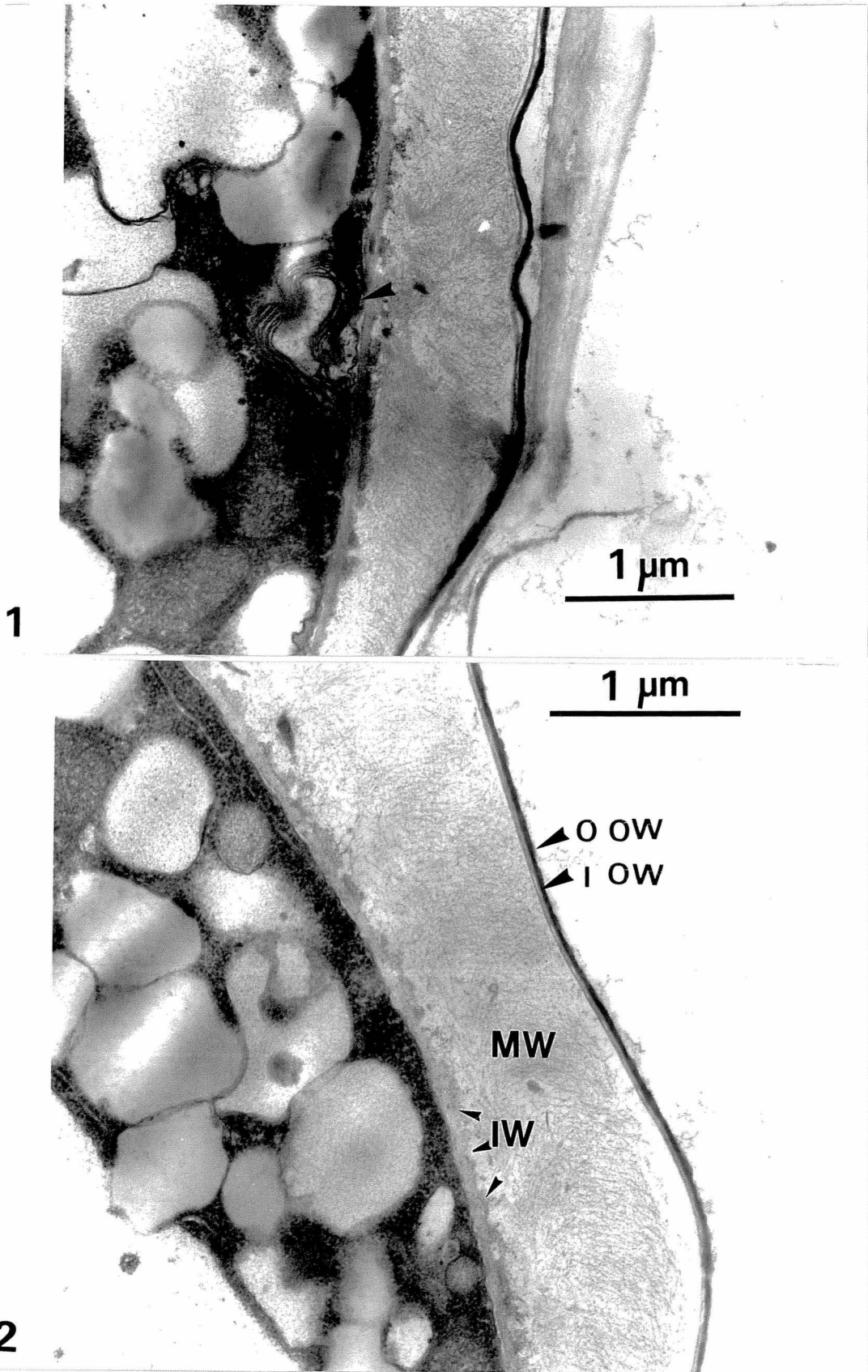
Pythium butleri 卵胞子よりの遊走子形成

- 1, 2. 遊走子発芽の典型, 2は位相差顕微鏡像.
- 3. 遊走子発芽の終了した卵胞子. 発芽管先端の開口(矢印)に在る.
- 4. 造血器で被のうした遊走子.
- 5, 6. 発芽管に形成された遊走子のう(矢印).



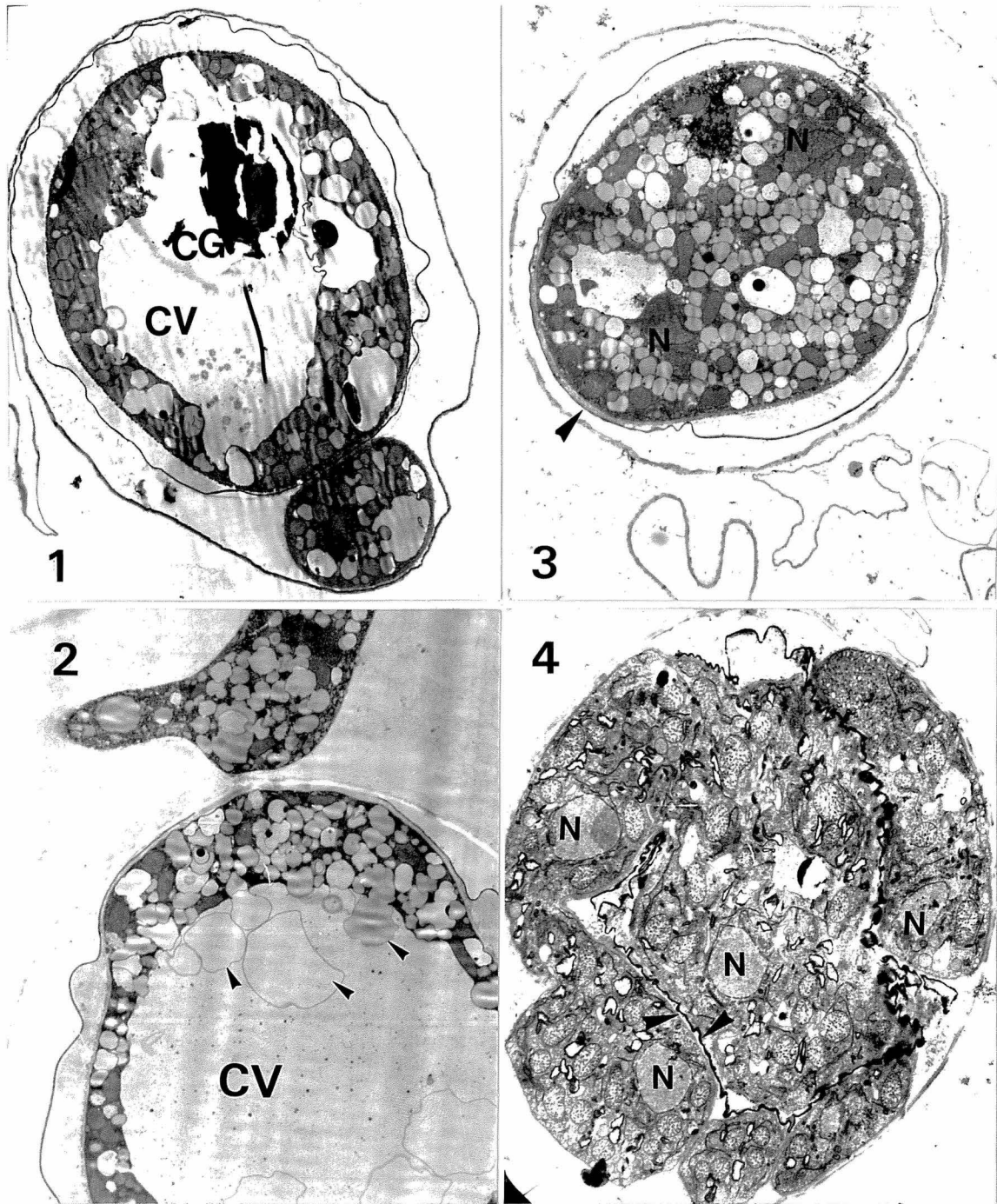
図版-20 休止期にある *Pythium butleri* 卵胞子の電子顕微鏡像。

1. グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム固定
中央部に CG. その周辺に空胞 (V) が認められる。核 (N) が認められる。
2. 1 の拡大。内部には小さな空胞 (V) がある。
3. 光学顕微鏡による発芽状況と CG の変化。
a: 休止期, b: やや発芽状態, c: 発芽管形成。



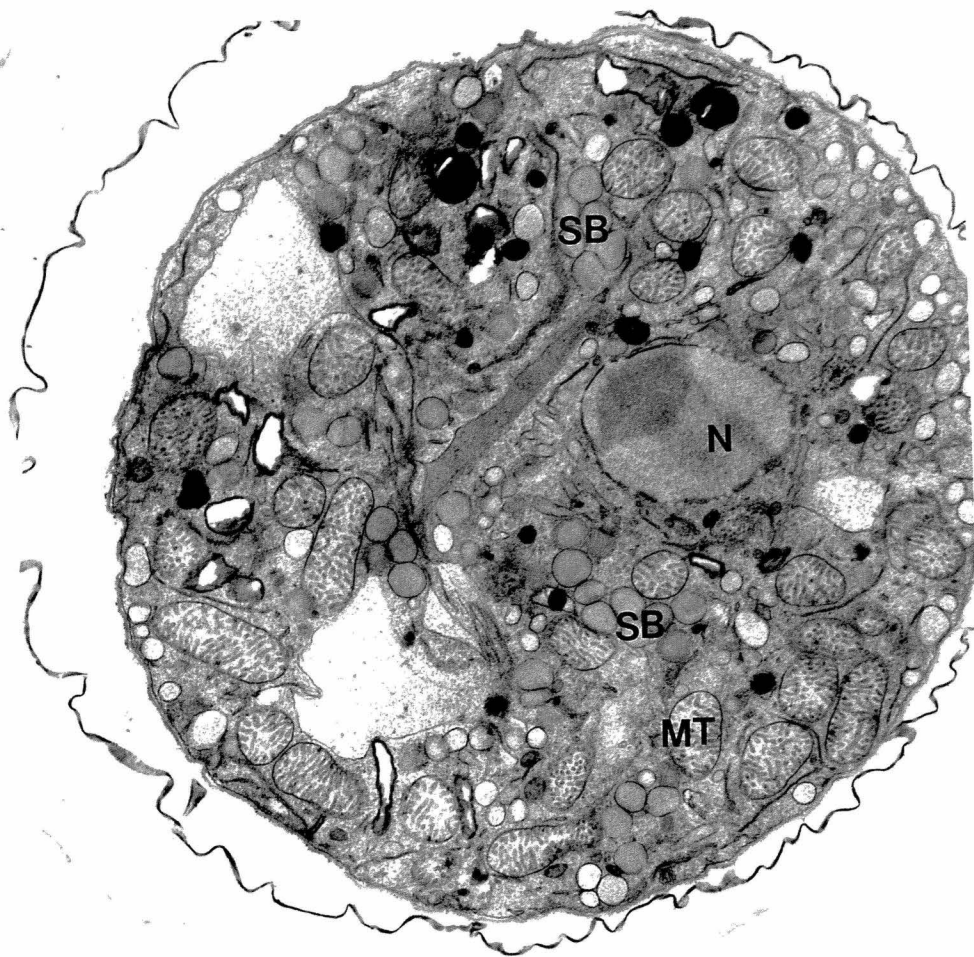
図版-2/. *Pythium butleri* 卵胞子の発芽と外壁の変化.

1. 外壁と細胞質内の膜状構造(矢印) グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定.
2. 外壁の構造.(グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定.)
 外壁は, 外層(Outer layer of oospore wall = OW),
 中層(Middle layer of oospore wall = MW), 内層
 (Inner layer of oospore wall = IW)の3層より構成される.
 外層は, 電子密度の異なる2つの層, (I-OW, O-OW)から成る.

— 2.5 μm 

図版-22. Pythium butleri. 発芽管形成と外壁の変化.

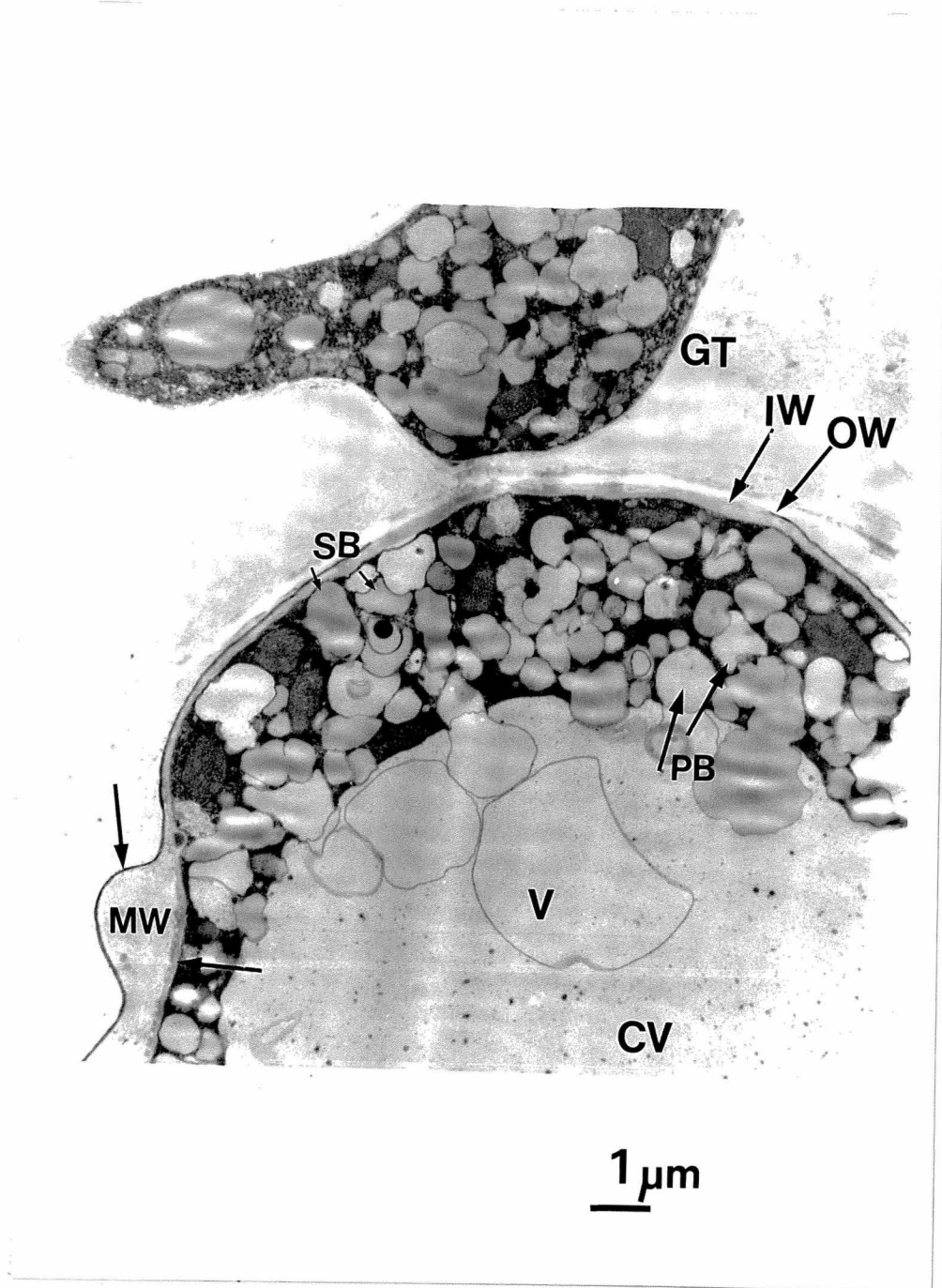
1. Central reserve globule body (CG)とその周囲に広がった Central vacuole (CV) グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定.
2. CV 内部に生じた空胞 (CV) 矢印. グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定.
3. 卵型になった卵胞子 (グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定). 発芽管の部分 (矢印) で中層は全く消失している。Nは核を示す.
4. 造卵器内に生じた発芽管と卵胞子。(グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム固定) 卵胞子外壁は、外層 (矢印) をのみとっている。



1.14 μm

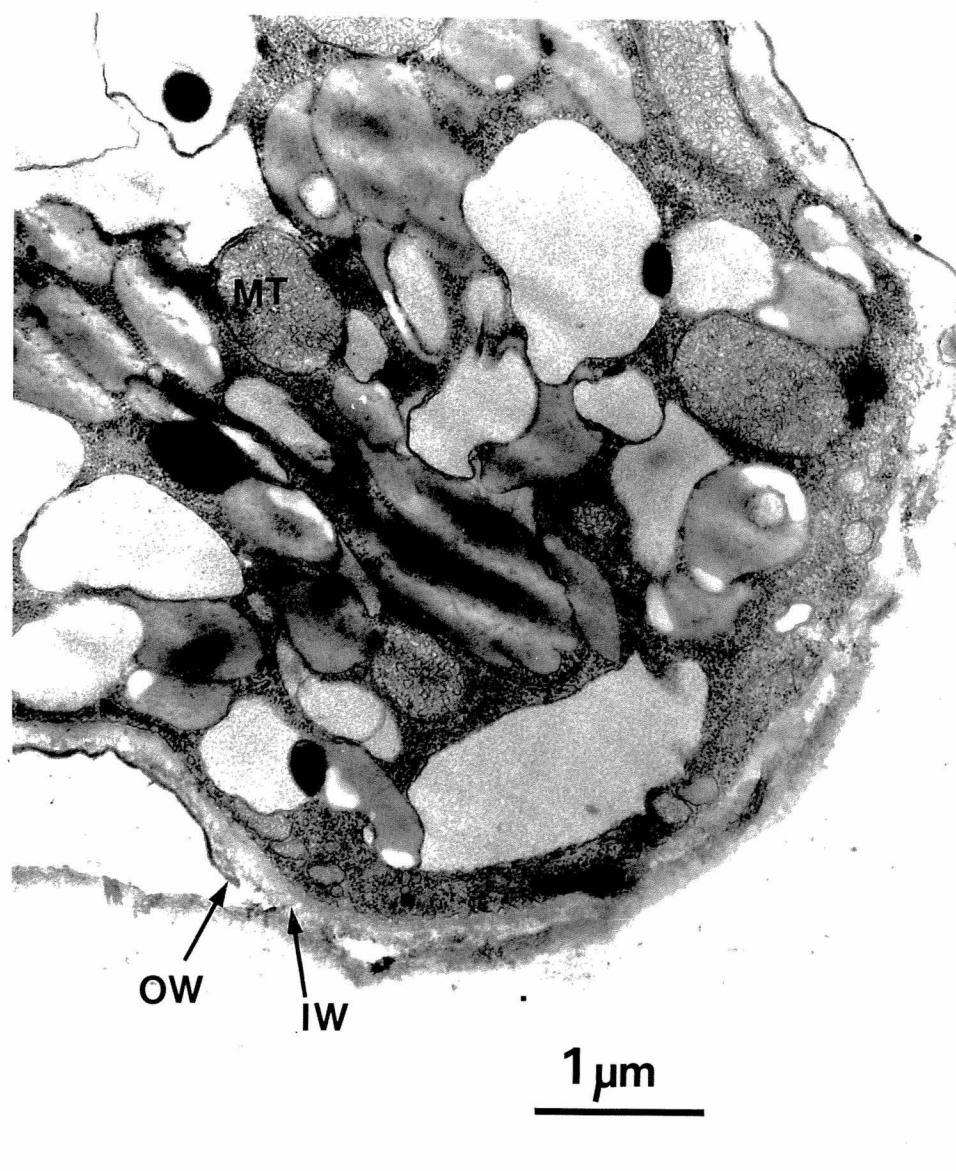
図版-23. Pythium butleri 発芽胞子の全体像.

核(N), ミトコンドリア(MT), Storage body (SB), が認められる.
グルタルアルデヒド過マンガン酸カリウム固定.



図版-24. *Pythium butleri* 発芽管形成部位の微細構造

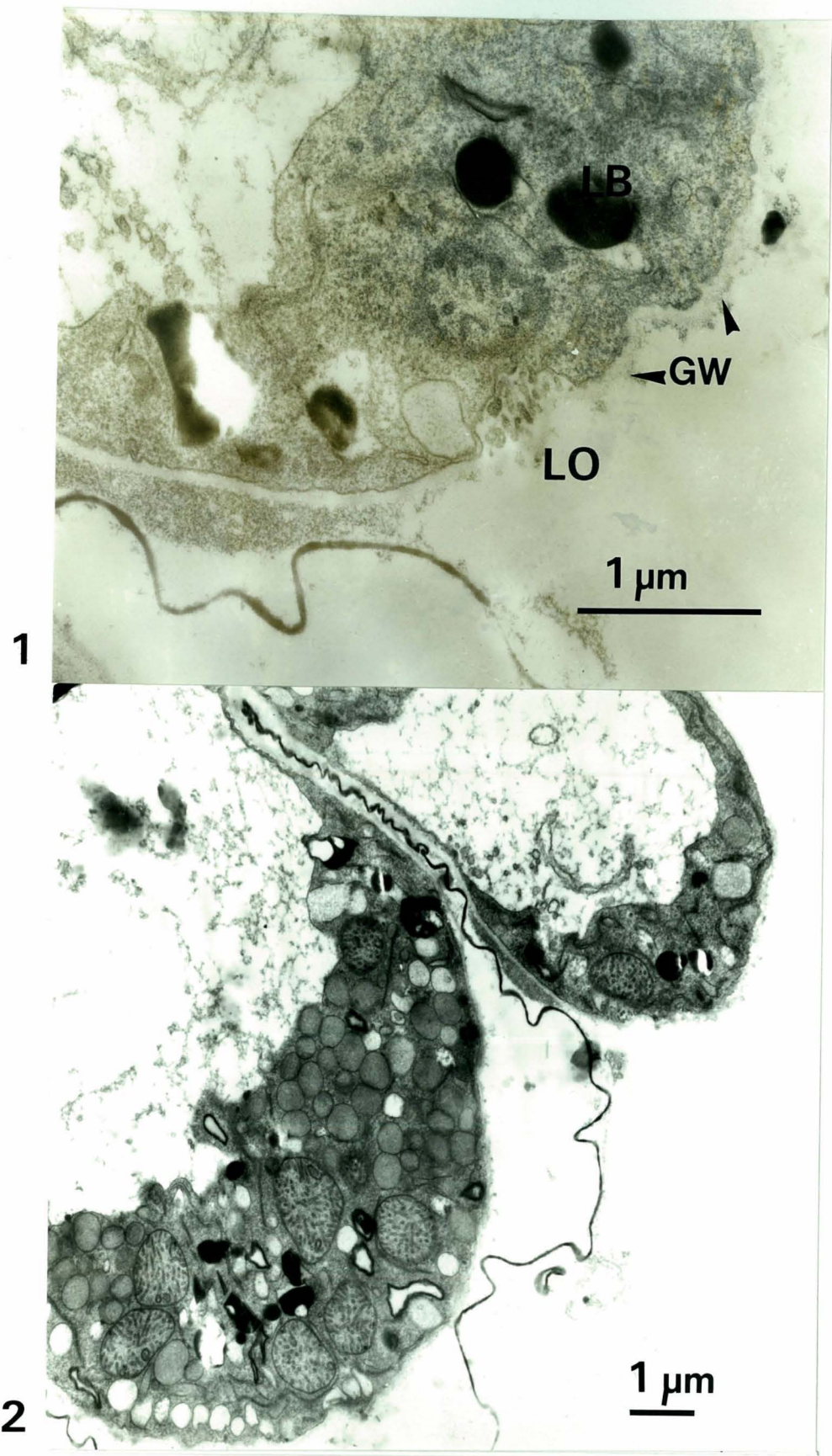
発芽管形成部位の卵胞子外壁の消失と Central vacuole (CV) 内に認められる小さな Vacuole (V) グルターアルデヒド・オスミウム酸固定
 発芽管 (GT), 造卵器壁 (OGW), 卵胞子外壁外層 (OW), 中層 (MW), 内層 (IW), Granular body (GB), Storage body (SB), Peripheral body (PV) ミトコンドリア (MT).



図版-25. Pythium butleri 卵胞子の発芽管先端。

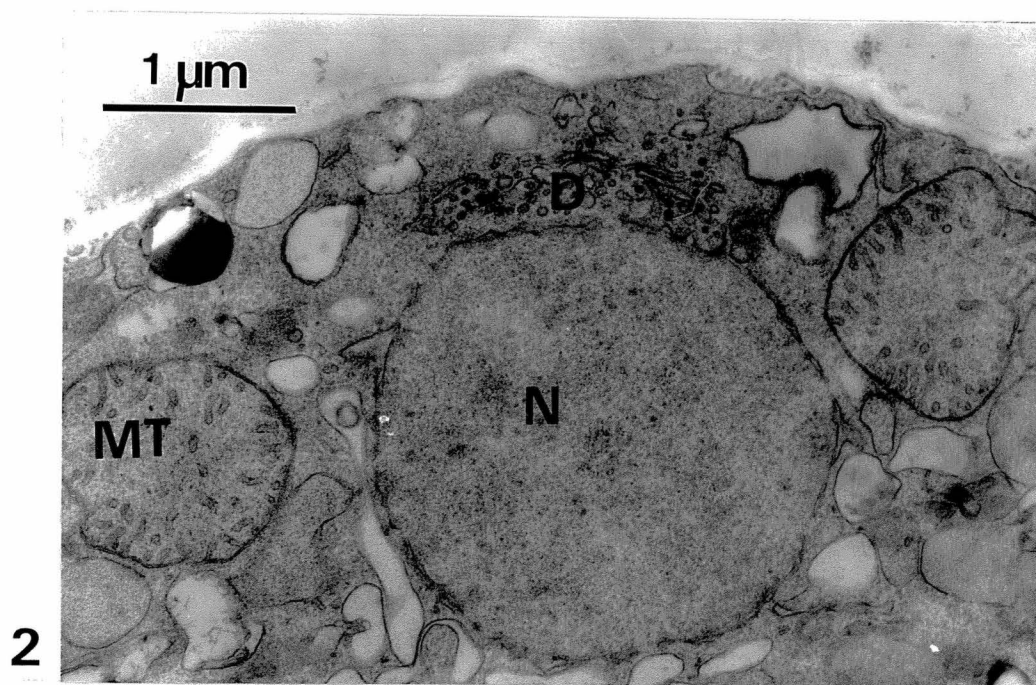
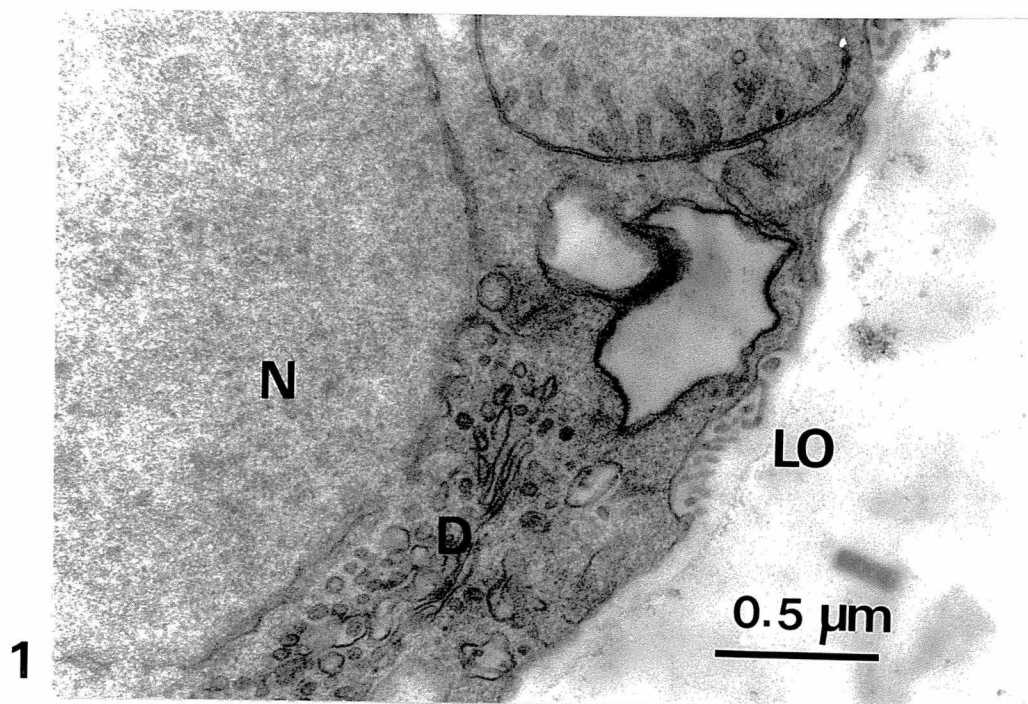
発芽管は、外層を破って形成され、内層が最外層になり、やがて菌糸の外壁となる。卵胞子の内容物は、発芽管の方へ移動している。

ミトコンドリア(MT)、内層(IW)、外層(OW)。



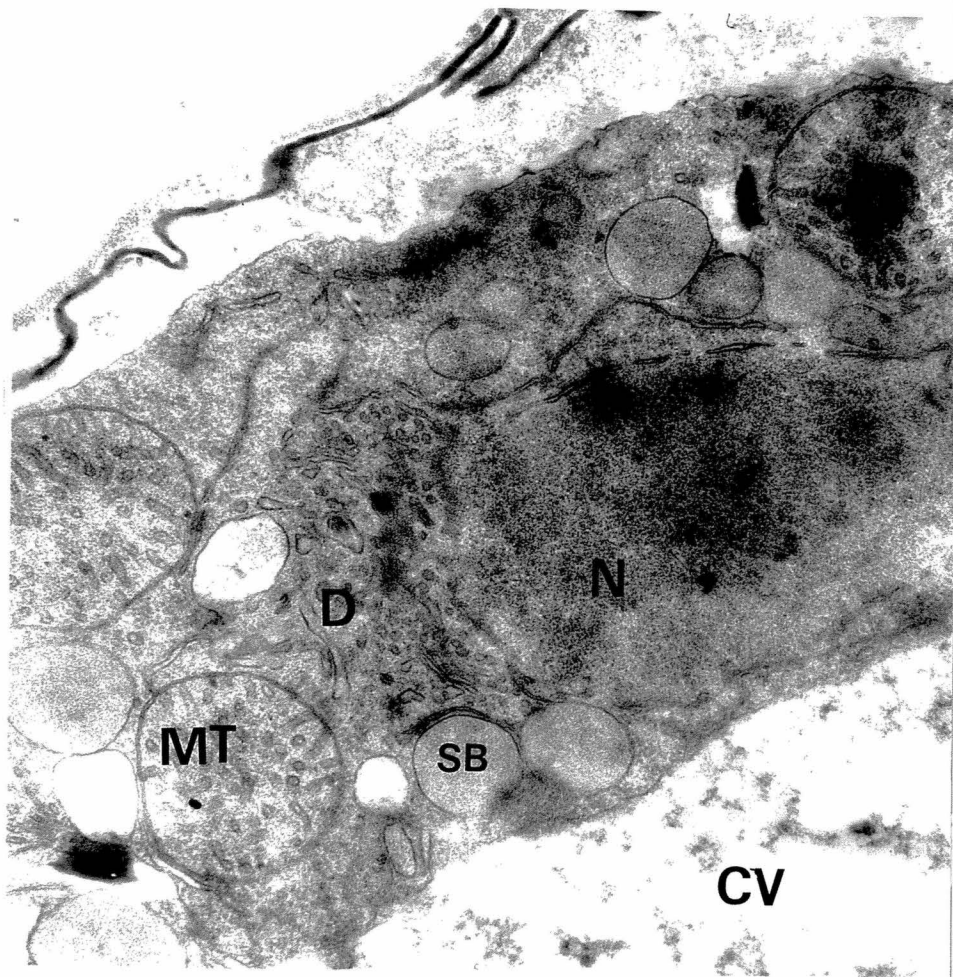
図版-26. Pythium butleri 発芽管先端の微細構造.

- 1. 発芽管先端の拡大
 発芽管壁 (GW) は先端で凹凸が著しく
 なっている。LO はロマソーム。LB は Lipid
 like body を示す。(グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム固定)
- 2. 1. の全体像



図版-27. *Pythium butleri* 卵胞子発芽管と卵胞子の微細構造.

1. 発芽管先端に認められるロマゾーム (LO) とディクティオゾーム (D), (N) は核を示す。
グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム固定。
2. 1. の全体像

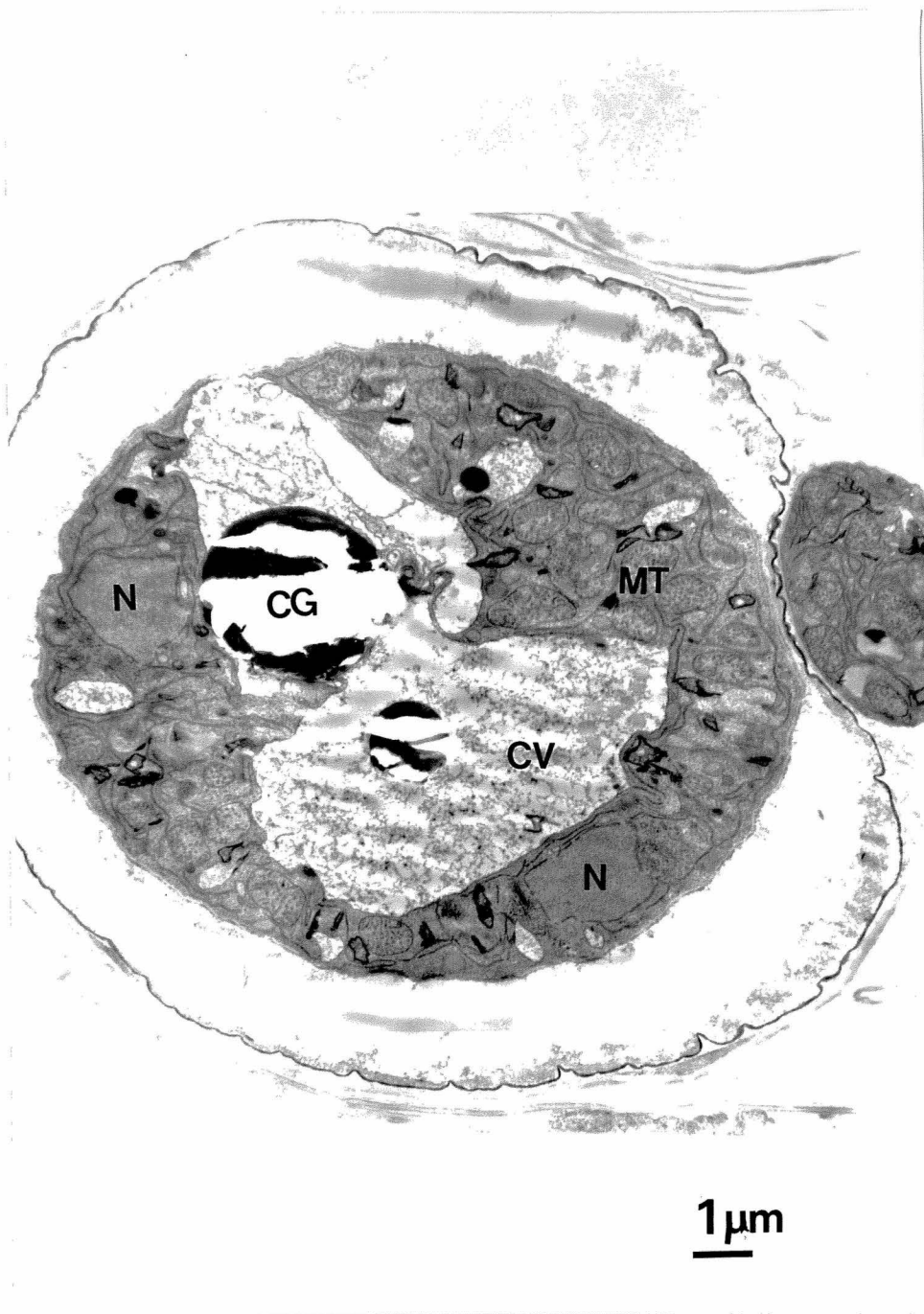


1 μ m

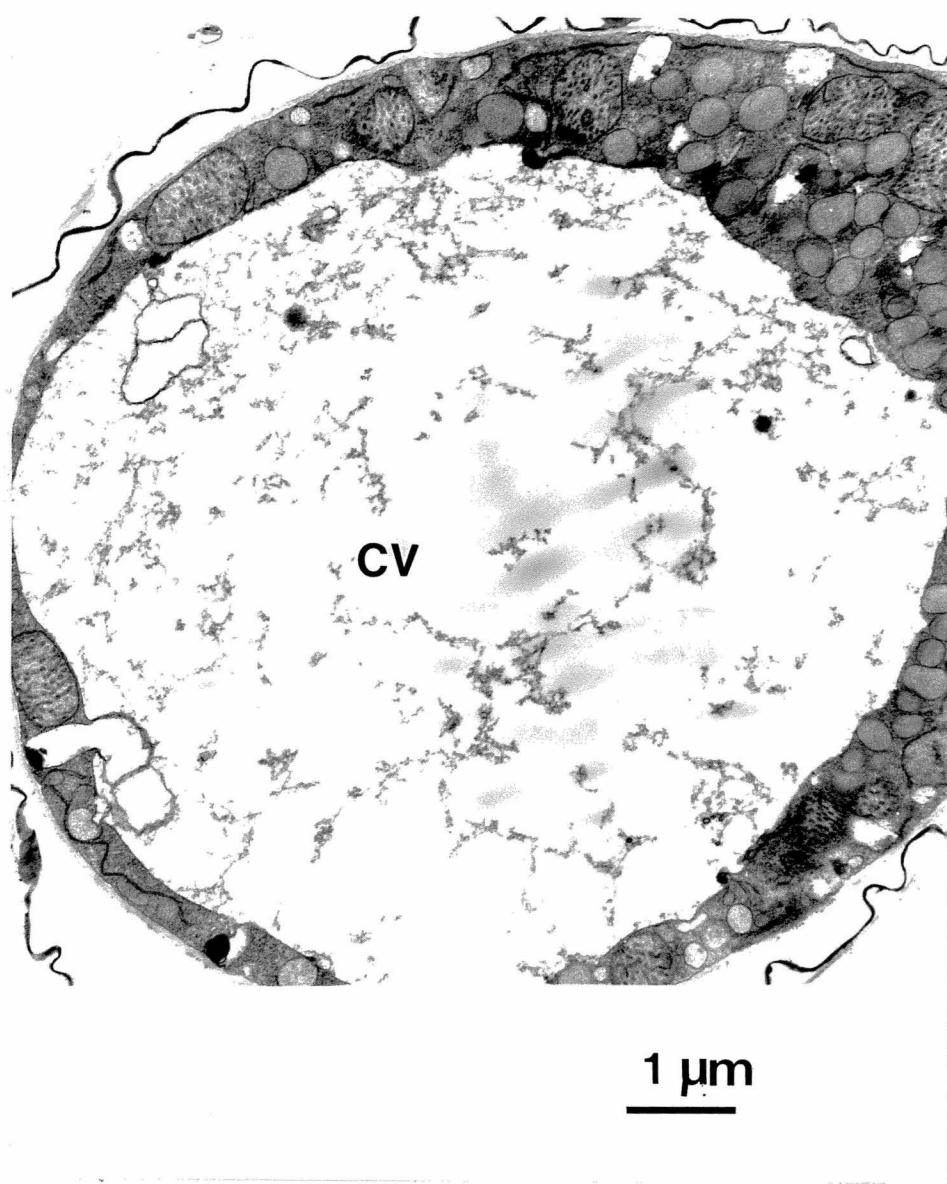
図版-28 *Pythium butleri* 卵胞子の核周辺の微細構造.

. グルタルアルデヒド過マンガン酸カリウム固定.

核 (N). ミトコンドリア (MT). Dictyosome (D),
Storage body (SB), Central vacuole (CV),

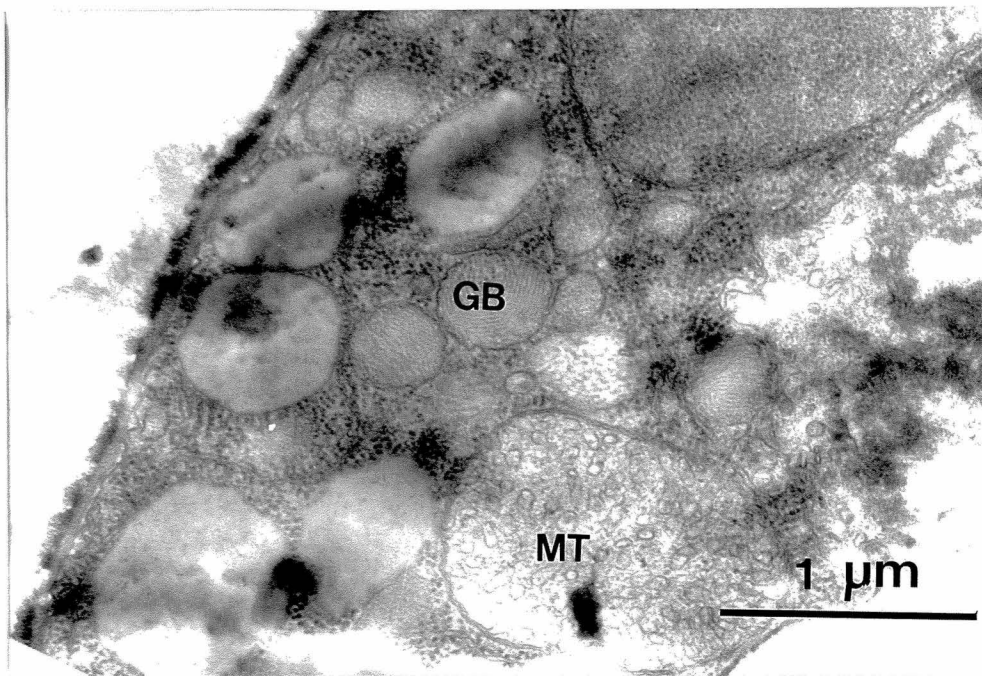
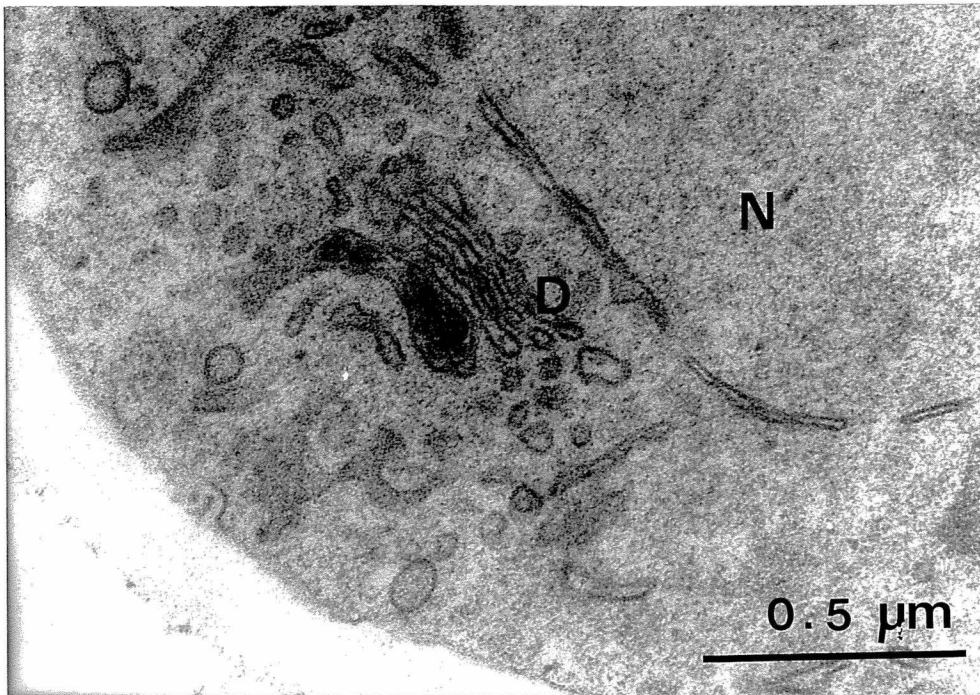


四版-29. 発芽過程にある *Pythium butleri* 卵胞子。
 グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム固定。
 卵胞子内には、核(N)、ミトコンドリア(MT)
 が認められる。Central vacuole (CV) 内
 に小さくなった Central reserve globule
 body (CG) が認められる。



図版-30. 発芽過程の進行した Pythium butleri の
卵胞子.

中央部は巨大な空胞(CV)となっている
グルタルアルデヒド・過マンガン酸カリウム固定



図版-31

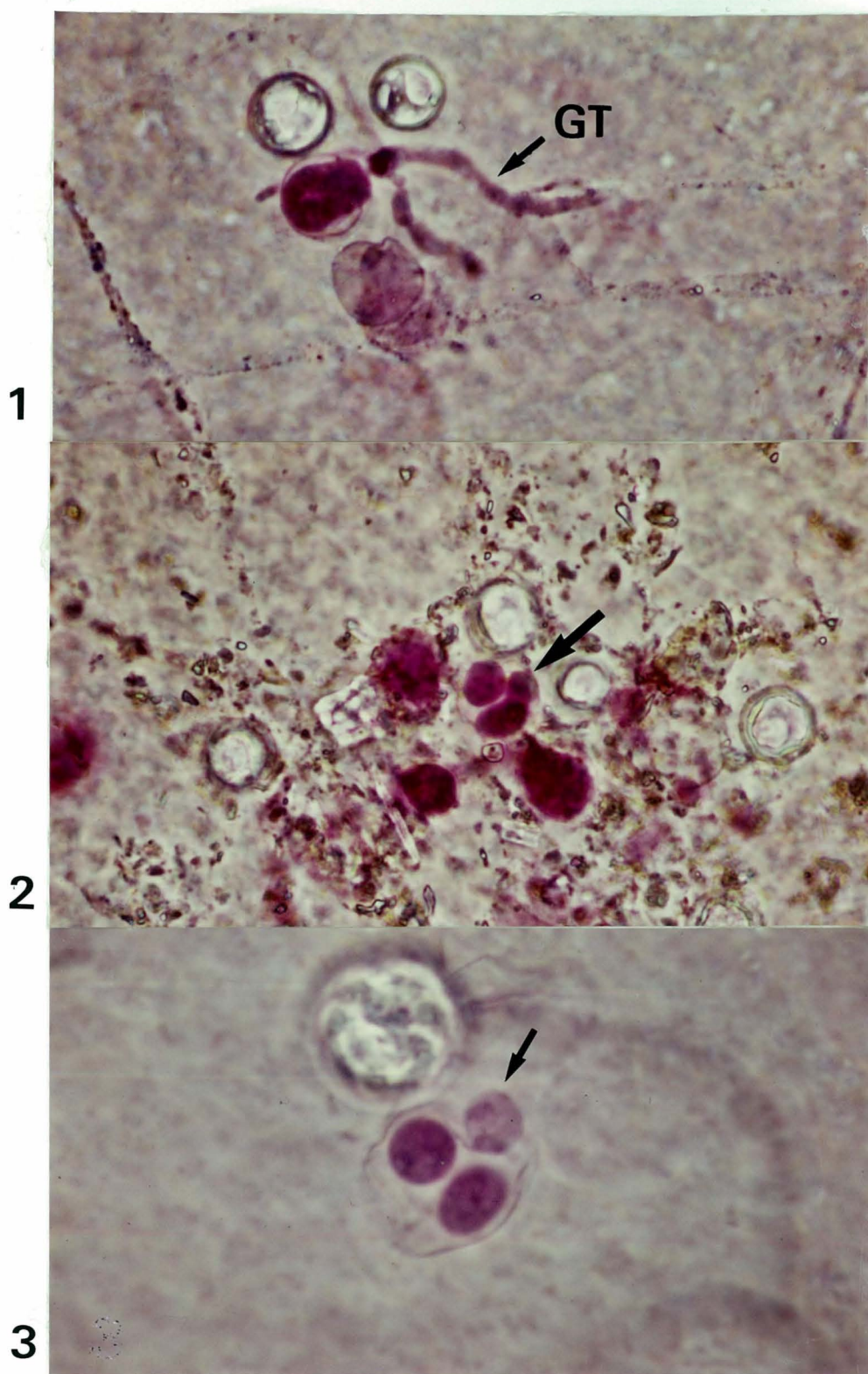
Pythium butleri 卵胞子発芽管と卵胞子の微細構造

1. 核周辺に認められるダイクティオソーム (D).
グルタルアルデヒド 過マンガン酸カリウム固定.
2. 卵胞子内に認められる粒子状構造を持つ球の Granular body (GB).
グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定



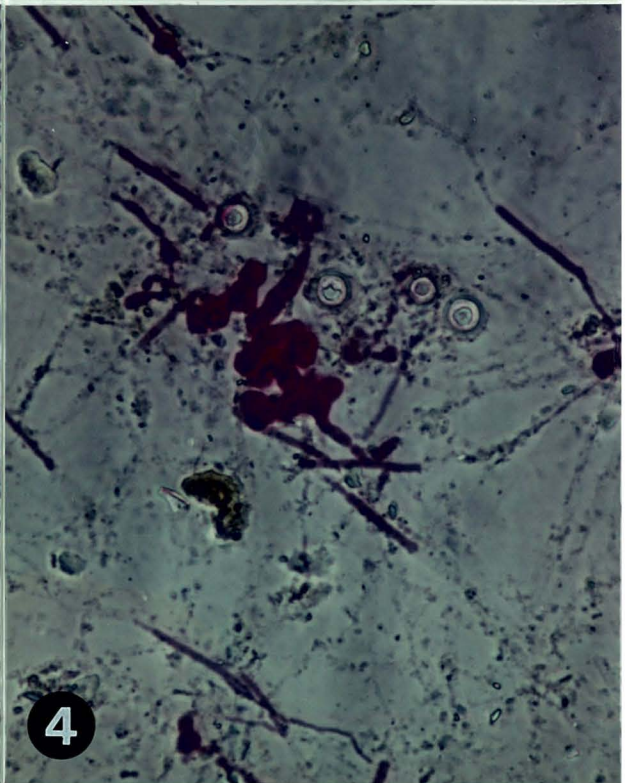
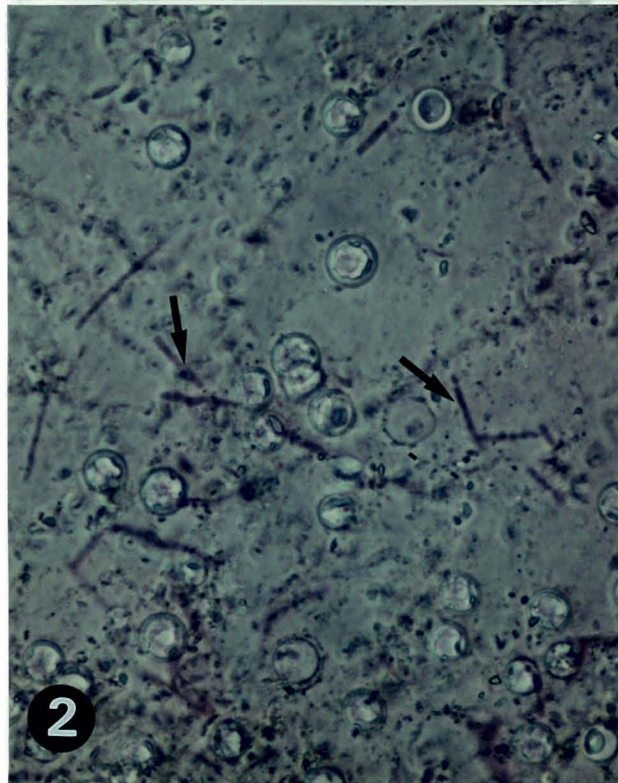
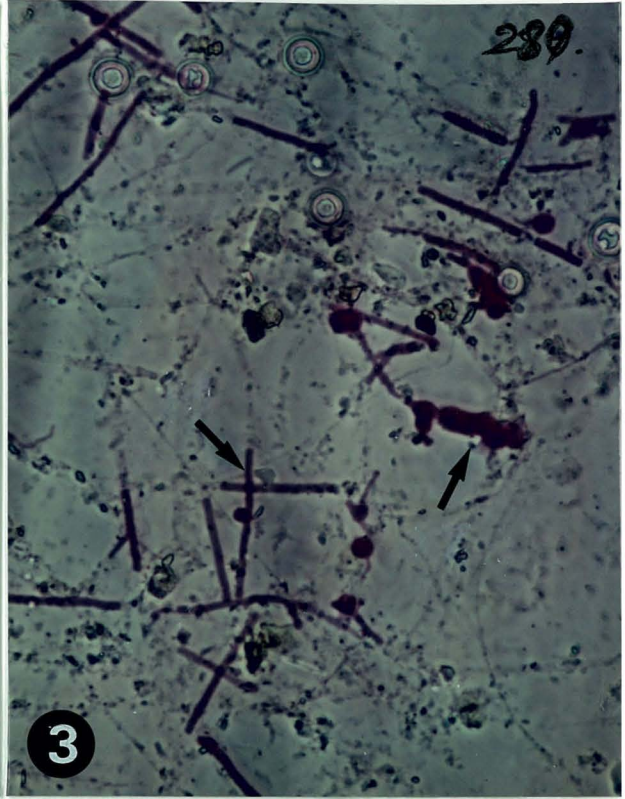
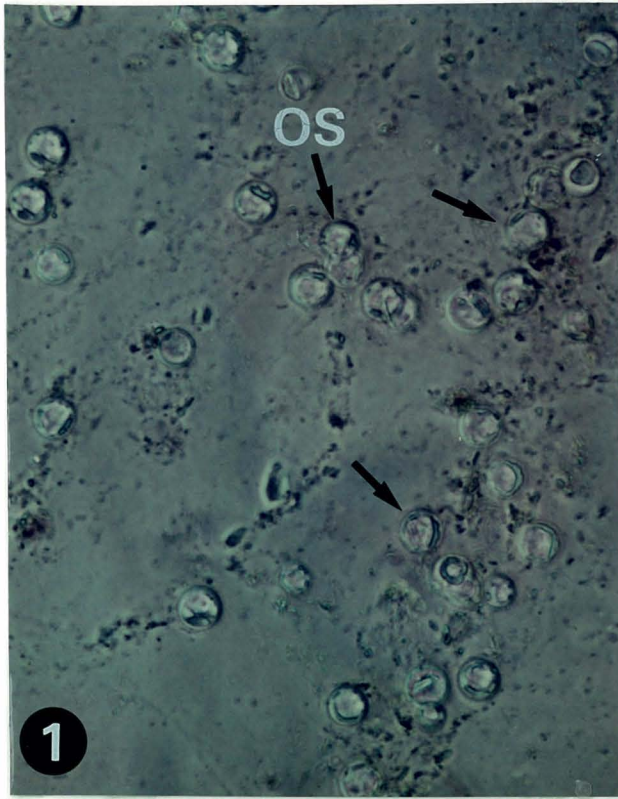
図版-32. Pythium butleri 卵胞子接種土壌での発病.

卵胞子を接種後3ヵ月間放置した土壌にホウレンソウを播種し、発病を調べたもの。
卵胞子接種濃度は 1.63×10^3 コ/g 乾土。
右は同一の土壌、無接種区。



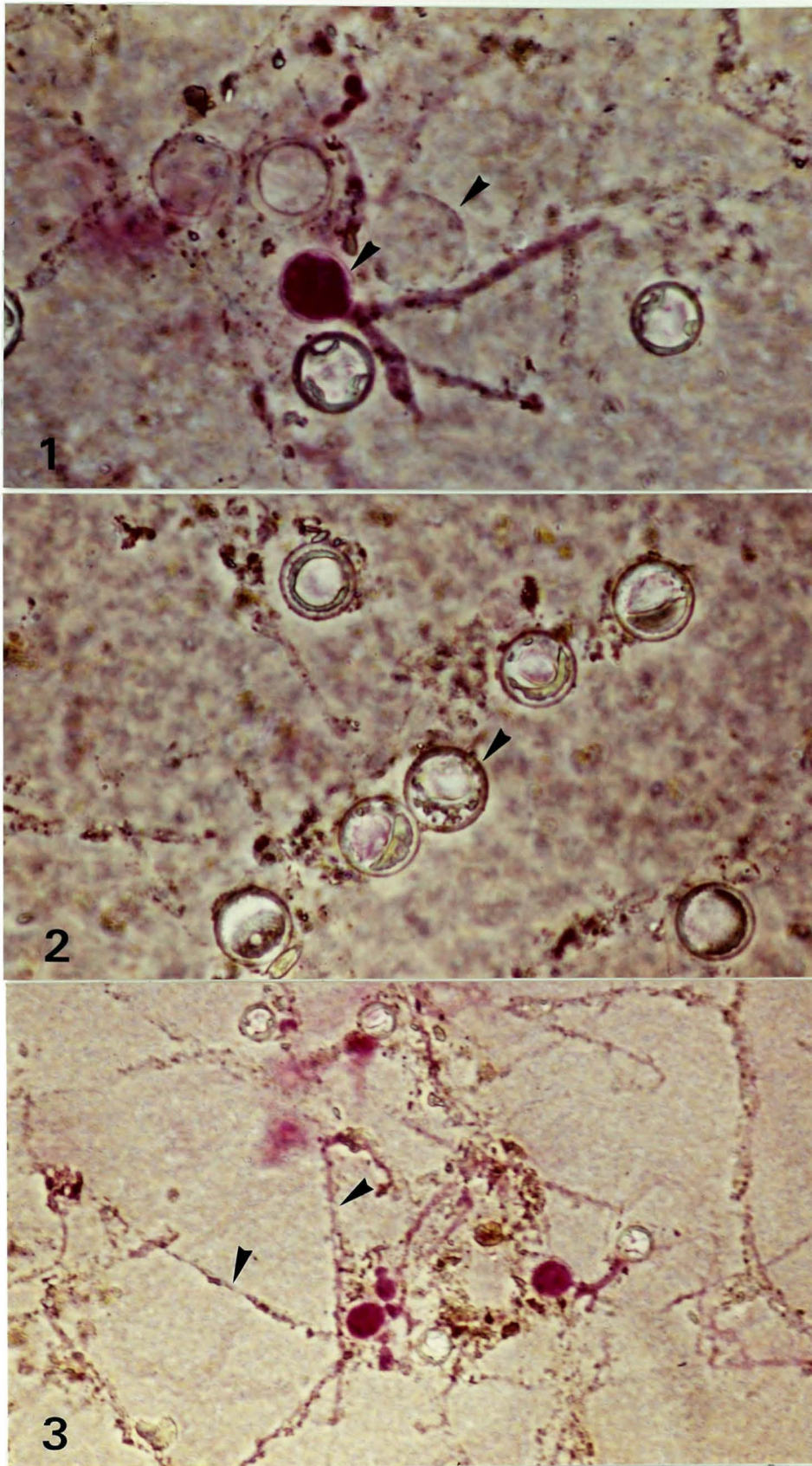
図版-33 Pythium butleri 卵胞子の遊走子発芽.

1. メンブレンフィルター法による土壤中での発芽管発芽.
2. 卵胞子の遊走子発芽の起ったことを示す. 造卵器内に被のうした遊走子(矢印).
3. 2の拡大図. 矢印は被のう遊走子を示す.



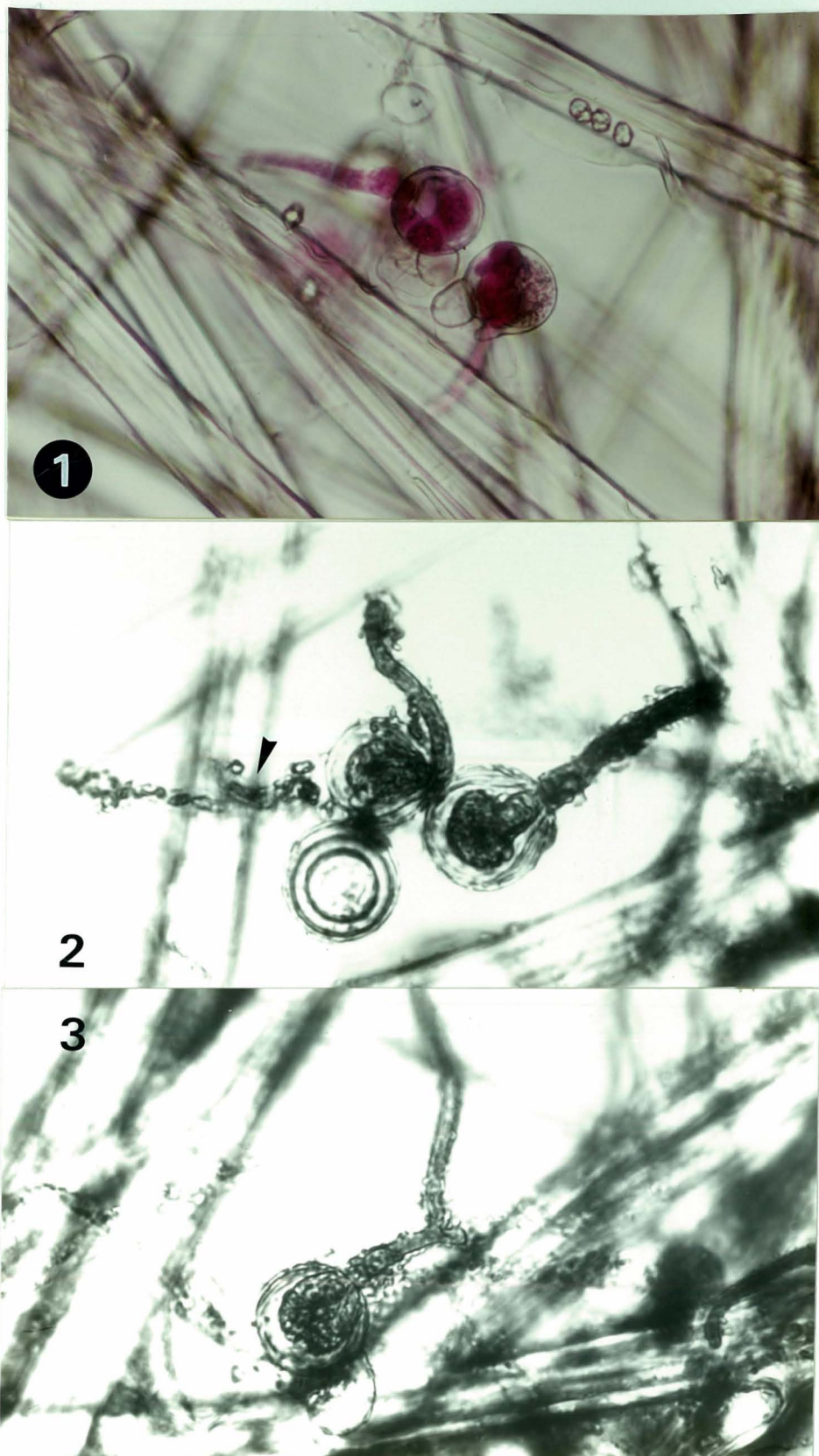
四版-34 土壤中における *Pythium butleri* 菌糸, 遊走子のうの溶解と卵胞子の生存.

1. 自然土壤中 28°C 10日後の溶菌状態,
菌糸, 遊走子のうは全く認めず 卵胞子のみ存在する.
2. 自然土壤中 28°C 5日後の溶菌状態.
菌糸が部分的に残っている (矢印)
3. 滅菌土壤中 28°C 10日後の状態,
菌糸, 遊走子のうがかなり認められる. 卵胞子数は少ない.
4. 滅菌土壤中 28°C 5日後の状態
卵胞子数は自然土壤に比べ少ないが, 菌糸が多い.



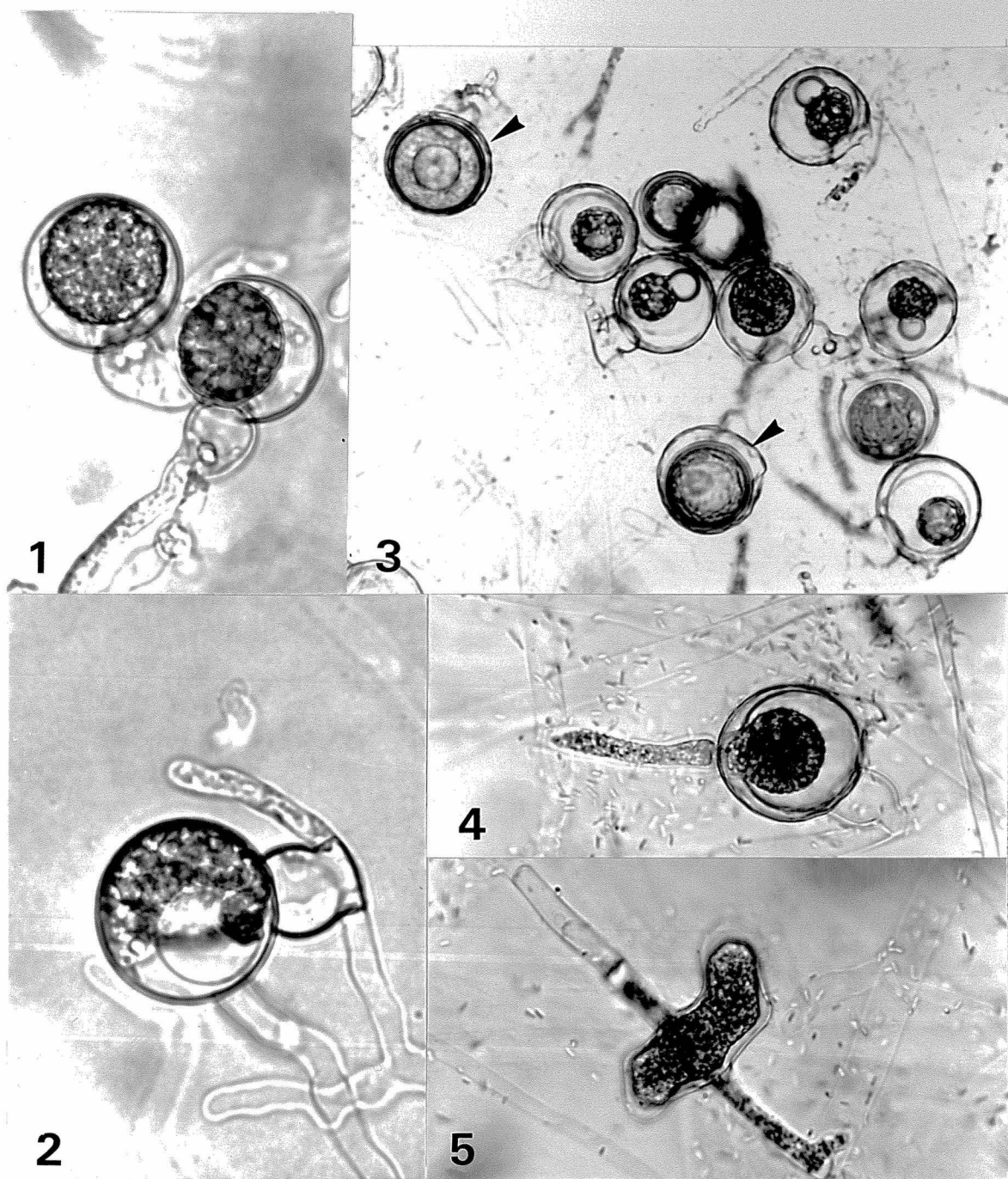
図版-35 滅菌土壤, 自然土壤中での *Pythium butleri* 卵胞子
発芽と発芽管溶菌.

1. 滅菌土壤中て発芽する卵胞子(矢印)と,すでに発芽し
原形質の消失した卵胞子(矢印)
2. 自然土壤中に休止状態にある卵胞子(矢印).
3. 多湿条件下(含水率37%)の自然土壤中て発芽する
卵胞子と,溶菌した菌糸(矢印).



図版-36. レンスパーパー法による土壌中における *Pythium butleri* 卵胞子の発芽.

1. レンスパーパーの繊維間で発芽する卵胞子.
2. 土壌中で発芽した卵胞子と、溶菌を起こしている発芽管 (矢印).
3. 土壌中における卵胞子発芽



図版-37. *Pythium butleri* 卵胞子の形態異常.

- 1, 2. 高温条件下で形成された卵胞子に認められる原形質の異常.
3. 1000 ppm のペニシリン溶液中に24時間浸漬したときに認められる原形質の凝縮.
全く影響を受けない休眠卵胞子(矢印)が認められる.
4. 100 ppm のペニシリン溶液中に24時間浸漬した発芽卵胞子の原形質凝縮.
5. 遊走子のように認められる原形質の凝縮.